

Aus der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt für Kardiologie und Angiologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Der Einfluss von Lycopin auf die Endothelfunktion
postmenopausaler Frauen**

Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Sonja Schmidt (geb. Hentschel)
aus Berlin

Datum der Promotion: 05.06.2016

Inhaltsverzeichnis

Abstrakt.....	5
1 Einleitung.....	8
1.1 Koronare Herzerkrankung und Arteriosklerose	8
1.1.1 Pathogenese	8
1.1.2 Risikofaktoren der KHK und der Arteriosklerose	11
1.1.3 Primärprävention der Arteriosklerose.....	14
1.2 Lycopin.....	15
1.2.1 Chemische Struktur.....	16
1.2.2 Physikalische und (bio)chemische Eigenschaften.....	17
1.2.3 Stoffwechsel	18
1.2.4 Metabolisierung	19
1.2.5 Bioverfügbarkeit	19
1.2.6 Durchschnittliche tägliche Aufnahme beim Menschen	20
1.2.7 Lycopingehalt im menschlichen Organismus	22
1.2.8 Eigenschaften und mögliche Wirkmechanismen	23
1.3 Endothelfunktion	26
1.3.1 Endothelfunktion	26
1.3.2 Endotheliale Dysfunktion	28
1.3.3 Endothelfunktionsmessung.....	30
2 Fragestellung.....	34
3 Methodik	35
3.1 Probandenkollektiv.....	35
3.2 Diät	36
3.3 Messbedingungen.....	36
3.4 Studienprotokoll	38
3.5 Endothelfunktionsmessung.....	39
3.5.1 Prinzip der FMD	39
3.5.2 Prinzip der NMD	40
3.5.3 Ablauf der Endothelfunktionsmessung (FMD und NMD).....	40
3.5.4 Gefäßdiameterbestimmung anhand der aufgezeichneten FMD- und NMD-Messungen	42
3.6 Analyse der Blutparameter	43
3.6.1 Probengewinnung	43
3.6.2 Bestimmung des Lycopinplasmaspiegels und weiterer Carotenoide im Probandenplasma.....	43
3.6.3 Bestimmung des Tocopherolplasmaspiegels	44
3.6.4 Bestimmung der lipophilen antioxidativen Kapazität.....	44
3.6.5 Bestimmung der Lipide und des C-reaktiven Proteins.....	45
3.7 Geräte und Materialien	45
3.8 Statistik.....	46
3.9 Ethik	46
4 Ergebnisse	47

4.1	Probandenkollektiv	47
4.2	Lycopingehalt im Tomatenmark	49
4.3	Lycopinplasmaspiegel	50
4.4	Endothelfunktionsmessung mittels FMDmax	53
4.4.1	Untersucherabhängige Variabilität	54
4.4.2	FMDmax zu allen Messzeitpunkten der Interventions- und Kontrollgruppe	54
4.4.3	Zeitverlauf der FMD	56
4.5	Endothelfunktionsmessung mittels NMDmax	58
4.5.1	NMDmax zu allen Messzeitpunkten der Interventions- und Kontrollgruppe	58
4.5.2	Zeitverlauf der NMD	60
4.6	Korrelation der FMDmax mit dem Plasmalycopinspiegel	62
4.7	Auswertung weiterer Blutparameter	63
4.7.1	β -Carotin- und Luteinplasmaspiegel zu den 3 Messzeitpunkten	63
4.7.2	Korrelation mit der lipophilen antioxidativen Kapazität	65
4.7.3	Plasmaspiegel der Blutfette und des C-reaktiven Proteins zu allen drei Messzeitpunkten	67
5	Diskussion	73
5.1	Studienaufbau	73
5.2	Probandenkollektiv	74
5.3	Lycopinplasmaspiegel	76
5.3.1	Kinetik	76
5.3.2	Bioverfügbarkeit	78
5.4	Auswirkung der Lycopinsupplementierung auf die Endothelfunktion	79
5.5	Auswirkung der Lycopinsupplementierung auf weitere Laborparameter	82
5.6	Endothelfunktionsmessung	85
	Abkürzungsverzeichnis	91
	Literatur- und Quellenverzeichnis	94
	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	107
	Eidesstattliche Versicherung	109
	Anteilerklärung	110
	Lebenslauf	111
	Publikationsliste	112
	Danksagung	113

Abstrakt

Herz-Kreislauf-Erkrankungen sind weltweit die häufigsten Todesursachen. Eine der pathophysiologischen Ursachen dafür sind arteriosklerotische Veränderungen im Gefäßsystem. Eine Vielzahl von Studien konnte einen Einfluss auf diesen Prozess durch die Ernährung nachweisen. In diesem Zusammenhang deuten zahlreiche epidemiologische und klinische Studien darauf hin, dass das Carotenoid Lycopin eine protektive Wirkung auf Herz-Kreislauf-Erkrankungen bzw. den Entstehungsprozess der Arteriosklerose zu haben scheint. Lycopin ist ein roter Pflanzenfarbstoff, der in der westlichen Ernährung vor allem durch Tomaten oder Tomatenprodukte aufgenommen wird. Die Ursache seiner vermuteten kardioprotektiven Wirkung steht aktuell im Augenmerk der Forschung. Ziel dieser Arbeit war es, im Rahmen des europaweiten Forschungsprojektes LYCOCARD den Einfluss von Lycopin auf die Endothelfunktion zu erforschen. Dafür wurde bei 19 postmenopausalen Frauen eine randomisierte, einfach verblindete Interventionsstudie mit Cross-over-Design durchgeführt. Nach einer vierzehntägigen, lycopinfreien Diät erfolgte eine Aufteilung des Probandenkollektivs in zwei Studienarme. Während der eine Studienarm mit der Lycopinsupplementierung in Form von Tomatenmark begann, erhielt der andere Studienarm eine Kontrolldiät ohne Lycopin. Nach Durchlauf des ersten Messzyklus erfolgte nach erneuter Lycopinauswaschphase das Cross-over in den anderen Studienarm. Ein Messzyklus bestand neben der Bestimmung des Lycopinplasmaspiegels aus drei Endothelfunktionsmessungen: einer vor Beginn, einer 24 Stunden nach Beginn und einer am Ende des jeweiligen Messzyklus nach 7 Tagen. Jede Probandin durchlief beide Studienarme und erhielt damit insgesamt 6 Endothelfunktionsmessungen. Die Messung der Endothelfunktion erfolgte in dieser Studie als nichtinvasive, flussvermittelte, endothelabhängige Vasodilatation nach reaktiver Hyperämie mittels hochauflösenden Ultraschalls an der *A. brachialis*.

Trotz des signifikanten Anstiegs der Lycopinplasmawerte unter der 7-tägigen Tomatenmarksupplementierung konnten wir keinen positiven Einfluss auf die vaskuläre Endothelfunktion der Probandinnen nachweisen. Es konnte somit keine signifikante Korrelation zwischen Gesamt-Lycopinplasmaspiegel und maximaler prozentualer endothelabhängiger Vasodilatation festgestellt werden. Gleichmaßen zeigten auch der antioxidative Status sowie der Lipidstatus keine Beeinflussung durch den erhöhten Lycopinplasmaspiegel nach der Tomatenmarksupplementierung.

Es kann somit zusammenfassend festgestellt werden, dass die Lycopinsupplementierung in Form von Tomatenmark in dieser Studie keine Hinweise auf eine mögliche protektive

Wirkung auf die vaskuläre Endothelfunktion ergeben hat. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen anderer Interventionsstudien, in denen positive Effekte auf die Endothelfunktion nachgewiesen werden konnten. Die Ursache dieser unterschiedlichen Studienergebnisse könnte in der Interventionsdauer oder Auswahl des Probandenkollektivs liegen. Ein protektiver Effekt von Lycopin auf die Endothelfunktion bzw. das vaskuläre System kann somit trotz der negativen Ergebnisse in dieser Studie nicht ausgeschlossen werden.

Abstract

Cardiovascular diseases are the leading causes of death worldwide. One pathophysiological cause for these diseases are atherosclerotic changes of the vascular system. Numerous studies have demonstrated that the diet can have an influence on these processes. A number of epidemiological and clinical studies indicate that the carotenoid lycopene seems to have a protective effect on cardiovascular diseases. Lycopene is a red vegetable dye that can be found within the Western diet primarily in tomatoes or tomato products. The reason for its assumed cardioprotective effect is currently in the focus of research. The objective of this thesis as part of the pan-European research project LYCOCARD was to investigate the influence of lycopene on endothelial function. For this purpose, a randomized, single-blind interventional study with cross-over design was carried out with 19 postmenopausal women. The collective of subjects was split into two study arms after a fortnight's lycopene-free diet. One study arm underwent lycopene supplementation by consuming tomato paste, while the other study arm was taken on a lycopene-free diet. The cross-over of the study arms started after completion of the first measuring cycle with subsequent additional wash-out of lycopene. The measuring cycle was involved determination of the plasma lycopene level and three measurements of the endothelial function: before, 24 hours after the start and at the end of each cycle after 7 days. Each participant received a total of six measurements of their endothelial function. Assessment of endothelial function was done in this study as noninvasive flow-mediated endothelium-dependent vasodilatation after reactive hyperemia using high-resolution ultrasound of the brachial artery.

Despite a significant increase in plasma lycopene level during supplementation of tomato paste, we could not detect any positive impact on the vascular endothelial function. Consequently, there was no significant correlation between total plasma lycopene level and the maximum percentage endothelium vasodilatation. Similarly, the increased plasma lycopene level had no influence on the antioxidant status as well as on the lipid status.

In summary, this study found no evidence that the lycopene supplementation in the form of tomato paste has a protective effect on vascular endothelial function. This is in contrast to the results of other intervention studies in which positive effects of lycopene on endothelial function could be observed. The reason for the different outcomes between studies is unclear, and could involve the duration of the intervention or the selection of the subjects. Despite the negative results of this study, a protective effect of lycopene on endothelial function or the vascular system can thus not be excluded.

1 Einleitung

Weltweit stellt die hohe Morbidität und Mortalität durch Herz-Kreislauf-Erkrankungen (HKE) ein großes Problem dar. Im Jahr 2012 starben 17,5 Mio. Menschen an kardiovaskulären Erkrankungen (davon 7,5 Mio. an Herzinfarkten und 6,7 Mio. an Schlaganfällen). [1] Bei den zehn häufigsten Todesursachen 2013 in Deutschland stehen die chronische ischämische Herzkrankheit mit 8,2 %, der akute Myokardinfarkt mit 5,8 % und die Herzinsuffizienz mit 5,1 % an oberster Stelle. [2]

Der Begriff der Herz-Kreislauf-Erkrankungen ist nicht einheitlich definiert. Er beschreibt weit gefasst sämtliche Krankheiten des Herzens und des vaskulären Systems. In dieser Studie betrachten wir vorrangig die Erkrankungen, denen die mit dem Alter zunehmende Arteriosklerose zu Grunde liegt: Koronare Herzkrankheit (KHK), Myokardinfarkt und periphere Durchblutungsstörungen.

1.1 Koronare Herzkrankung und Arteriosklerose

Arteriosklerose, eine Systemerkrankung der Arterien, ist laut WHO definiert als „variable Kombination von Veränderungen der Intima, bestehend aus einer herdförmigen Ansammlung von Lipiden, komplexen Kohlenhydraten, Blut und Blutbestandteilen, Bindegewebe und Kalziumablagerungen (Kalkablagerungen), verbunden mit Verhärtungen der Arterienmedia“. Arteriosklerose ist multifaktoriell bedingt und die Ursachen der Entstehung sind bis dato nicht endgültig geklärt. Es existieren verschiedene Erklärungsmodelle.

Die gängigste Hypothese der Arterioskleroseentstehung ist die „Response to injury hypothesis“. [3] Sie geht von einer einmaligen Verletzung der Intima als initiales Geschehen aus. [4] Diese initiale Schädigung kann durch verschiedene Ursachen ausgelöst werden, wie z.B. mechanische Verletzungen, biochemische Schädigungen durch bakterielle Toxine, Schädigungen durch Virenangriffe oder Antigen-Antikörper-Reaktionen oder auch biophysikalische Verletzungen auf molekularer Ebene.

1.1.1 Pathogenese

Der Entstehungsprozess der Arteriosklerose gliedert sich in verschiedene Phasen.

Er beginnt mit der initialen Phase, geht über in die inflammatorische Phase, die Schaumzellbildung, die Bildung fibröser Plaques und endet mit dem Vollbild des irreversibel arteriosklerotisch veränderten Gefäßes.

Initial geschädigtes Gefäßendothel führt über eine vergrößerte Permeabilität der Endothelzellen zur Einlagerung von Lipoproteinen in das Bindegewebe der Intima. Diese eingelagerten Lipoproteine beinhalten vor allem Low-density-Lipoprotein (LDL), dessen Cholesterinanteil physiologisch durch High-density-Lipoprotein (HDL) in das Blut zurücktransportiert wird. Bei Oxidation dieser Lipoproteine durch freie Radikale, wie zum Beispiel reaktive Sauerstoffspezies (ROS), kommt es zur Bildung und konsekutiver Ansammlung von oxidiertem LDL (oxLDL).

In der folgenden inflammatorischen Phase führt die verstärkte Anhäufung von oxLDL in der Intima zur Hemmung der endothelialen Stickstoffmonoxid(NO)-Produktion, dem wichtigsten Faktor der Vasodilatation. Gleichzeitig wird die Chemokinproduktion in den Endothelzellen angeregt. Es werden vermehrt Zelladhäsionsmoleküle, Wachstumsfaktoren und chemotaktische Proteine exprimiert, welche zu einer verstärkten Adhäsion und Einwanderung von Leukozyten, speziell von Monozyten, aus dem Blut in die Proteoglykanschicht der Intima führen. Erleichtert wird diese transendotheliale Migration durch den Ankermechanismus zwischen Endothel und Leukozyten, bestehend aus verschiedenen miteinander in Verbindung tretenden Adhäsionsmolekülen (endothelial u.a. VCAM-1 (CD106), ICAM-1 (CD54), E- und P-Selektin; leukozytär u.a. L-Selektin, β 2-Integrin und VLA-4). [4]

In der Intima proliferieren und differenzieren sich eingewanderte Monozyten unter Einwirkung von endothelial exprimierten Wachstumsfaktoren (monocyte colony stimulating factor (M-CSF)) zu aktivierten Makrophagen, welche nach Untersuchungen von Brown und Goldstein (1985) eine zentrale Bedeutung bei der Atherogenese besitzen. [5] [6]

Diese aktivierten Makrophagen sind in der Lage, über Scavenger-Rezeptoren (SR-A, CD36 und CD68) auf ihrer Oberfläche gezielt modifizierte oxLDL-Partikel zu erkennen und ungehemmt zu phagozytieren. Da diese oxLDL-Partikel an Cholesterinestern gebunden sind, die nach Inkorporation im Zellinneren der Makrophagen sehr reaktionsträge sind, kommt es zur Speicherung in großen Vakuolen im Zytoplasma. Je nach Lipidmenge in der Intima führt dies zu einer Überladung mit Lipiden und Cholesterinestern in den aktivierten Makrophagen. Es entstehen sogenannte Schaumzellen, welche sich zwischen Intima und Media einlagern. [5] Nachfolgend kommt es zum Untergang zahlreicher Schaumzellen, wofür als Ursache eine fehlende Autoregulation der oxLDL-aufnehmenden Rezeptoren diskutiert wird. [7] In der Intima verbleiben eine ansteigende Menge freier, teilweise hochgradig oxidiertes Lipide und freier Radikale. Der Prozess der beginnenden Arteriosklerose ist bis zu diesem Zeitpunkt noch reversibel.

Es folgt eine Einwanderung aktivierter glatter Muskelzellen der arteriellen Media in die Intima, wo sie zu extrazelluläre Grundsubstanz sezernierenden Zellen umgewandelt werden. Diese Extrazellulärschicht setzt sich zusammen aus verschiedenen Kollagenen, Proteoglykanen und elastischen Fasern, welche im Verlauf eine fibröse Kappe um die oxidierten LDL-Partikel aus abgestorbenen Schaumzellen bildet. Es entstehen fibröse arteriosklerotische Plaques mit einem Lipidkern, in dem es zu einer entzündlichen Reaktion kommt. Diese Reaktion wiederum führt zur weiteren Einwanderung und Proliferation glatter Muskelzellen. An diesem Prozess mitbeteiligt sind verschiedene Zytokine und Wachstumsfaktoren, wie Interleukin-6 (IL-6) und basic-Fibroblast-Growth-Factor (bFGF). Die progrediente Plaquerbildung engt das Gefäßlumen zunehmend ein. Makroskopisch ist eine fibröse verdickte Arterienintima zu erkennen. Damit ist die irreversible Verhärtung des Gefäßes erreicht. Dieser Prozess der arteriosklerotischen Arterienwandverdickung (Atherom) verläuft über Jahre asymptomatisch und schleichend. [4]

Fortschreitende Veränderungen, auch bezeichnet als komplexe Läsionen, und die letztendliche Thrombenbildung führen zum Endstadium der Arteriosklerose.

So wird im weiteren Verlauf die zunächst stabile arteriosklerotische Plaque in der Intima durch verschiedene Prozesse destabilisiert. Zum einen hemmt das in der Entzündungsreaktion freigesetzte Interferon- γ (INF- γ) die weitere Produktion der Extrazellulärschicht, was zum Stabilitätsverlust der fibrösen Plaque führt. Zum anderen fördern die zusätzliche Einlagerung von ausgefallenen Cholesterinkristallen und Kalksalzen, Lipiden und verschiedenen Kollagenasen die Destabilisierung der gebildeten arteriosklerotischen Plaques. Es entstehen vulnerable (instabile) Plaques, welche final rupturieren. Bricht die Plaque auf, wird eine große Menge Tissue Faktor bzw. Thromboplastin freigesetzt, einem wichtigen Faktor bei der extrinsischen Blutgerinnung. Ein Thrombus entsteht, der Gefäßdurchmesser der Arterien wird weiter verringert. [7]

Dauert der Prozess der Arterienwandverdickung oft Jahre und verläuft asymptomatisch, kann die Plaqueruptur mit Thrombusbildung in kürzester Zeit zum inkompletten oder kompletten Gefäßverschluss führen, und sich als Krankheitsbild der akuten pAVK oder des akuten Koronarsyndroms äußern.

Neben der Thrombusbildung wird die Arterienwand durch die Gewebeumbauten insgesamt brüchiger und unflexibel, ursächlich dafür ist u.a. eine Endothelausdünnung mit zentraler Nekrosebildung.

Im erweiterten Ansatz der „Response to injury hypothesis“ steht nicht mehr die singuläre Verletzung als Initiierung des arteriosklerotischen Geschehens im Vordergrund, sondern es wird allgemein von einer endothelialen Dysfunktion als Ursache für die Arteriosklerosebildung gesprochen, welche genauso gut durch eine allmählich auftretende Dysbalance der Endothelfunktion hervorgerufen werden kann.

Eine weitere diskutierte jüngere Hypothese, die „Lipoprotein-induced atherosclerosis hypothesis“, nach dem amerikanischen Forscher und Nobelpreisträger Joseph Leonard Goldstein, sieht die eigentliche Ursache bei der Initiierung der Arteriosklerose nicht in der Intimaverletzung, sondern in der oxidativen Modifizierung des LDLs mit der letztendlichen Schaumzellbildung im Endothel über die stark geförderte Makrophagenaufnahme. [6] Hier gilt die Intimaverletzung nur als ein Teilschritt des komplexen arteriosklerotischen Geschehens.

1.1.2 Risikofaktoren der KHK und der Arteriosklerose

Die Manifestation der Arteriosklerose in den Herzkranzarterien bildet die Grundlage der koronaren Herzerkrankung. Sie und der Myokardinfarkt stellen die Hauptkomplikationen der Arteriosklerose dar.

Die Risikofaktoren der Arteriosklerosebildung bzw. die kardiovaskulären Risikofaktoren wurden das erste Mal umfassend und systematisch in der Framingham-Studie untersucht, einer epidemiologischen Langzeitstudie in den USA, die 1948 begann und über 5000 Teilnehmer beiderlei Geschlechts zwischen 30 und 60 Jahren in der amerikanischen Kleinstadt Framingham prospektiv auf die Risikofaktoren und Ursachen von Herzkreislaufkrankungen hin beobachtete und die gewonnenen Daten auswertete. [8] Die gefundenen Ergebnisse zur Charakterisierung von Gruppen mit einer erhöhten KHK-Inzidenz waren medizinisch wegweisend. Es handelt sich um Risikofaktoren, die pathophysiologisch für das Auftreten und Fortschreiten koronarer Läsionen im Sinne einer KHK verantwortlich sind.

Eine weitere hier zu erwähnende Studie ist die Monica-Studie der WHO, eine der größten medizinisch-epidemiologischen Studien weltweit. 37 Zentren in 27 Ländern beteiligten sich an der zwischen 1976 und 2002 durchgeführten Kohortenstudie mit Daten von insgesamt über 10 Millionen Patienten. Diese Studie konnte die Vorgaben in Prävention und Therapie kardiovaskulärer Krankheiten wesentlich stärker präzisieren und damit einen großen Rückgang vor allem von KHK und Schlaganfällen erzielen. [9]

Zu den „klassischen“ Risikofaktoren gehören die Hypertonie, die Hyperlipidämie, Nikotinabusus, Diabetes mellitus und Adipositas.

Risikofaktoren können in unbeeinflussbare und beeinflussbare Faktoren (durch Verhaltensmodifikationen und/oder medikamentöse Therapie) unterschieden werden.

Unbeeinflussbare Risikofaktoren sind demnach persönliche Charakteristika. Zu ihnen werden gezählt:

- Alter,
- Geschlecht,
- Familienanamnese von KHK oder anderen arteriellen Gefäßerkrankungen in jüngerem Alter (Männer < 55 Jahre, Frauen < 65 Jahre),
- bereits bekannte KHK oder arteriosklerotische Gefäßerkrankung,
- Gen-Defekte/ Polymorphismen.

Beeinflussbare Risikofaktoren sind biochemische oder physiologische Charakteristika:

- arterielle Hypertonie,
- Hyperglykämie/Diabetes mellitus,
- Adipositas,
- Depression,
- Niereninsuffizienz,
- chronische Entzündung,
- thrombogene Faktoren,
- erhöhtes Gesamt-(LDL-)Cholesterin,
- niedriges HDL-Cholesterin,
- erhöhte Triglyceride,
- erhöhtes Homocystein.

Weiterhin gehört zu den beeinflussbaren Risikofaktoren der Lebensstil:

- Ernährung (cholesterin-, kalorien- und fettreich),
- Stress,
- Nikotinabusus,
- übermäßiger Alkoholgenuss,
- körperliche Inaktivität/sitzende Tätigkeit. [10]

Die genannten Risikofaktoren werden ergänzt durch neuere Risikoprädiktoren, die in den letzten Jahren in weiteren Studien identifiziert werden konnten. [10] Dazu zählen erhöhte

Werte von Lipoprotein(a), Fibrinogen, Faktor VII und Plasminogen-Aktivator-Inhibitor (PAI), das Anti-Phospholipidantikörpersyndrom, Östrogenmangel (auch postmenopausal), Hyperinsulinämie und familiäre Hypercholesterinämie (FH, LDL-Rezeptor-Defizienz). Liegen mehrere Risikofaktoren gleichzeitig vor oder sind diese in dem Ausmaß ihrer Ausprägung stärker vertreten, steigt das Risiko an einer koronaren Herzkrankheit zu erkranken an.

Frauen und Männer sterben gleich häufig an kardiovaskulären Erkrankungen. Geschlechtsspezifisch unterschiedlich ist aber das altersabhängige Auftreten der kardiovaskulären Krankheiten. So entwickeln Frauen eine KHK durchschnittlich 10 Jahre später und einen Herzinfarkt 20 Jahre später als Männer. Der Risikoanstieg beginnt um das 50. Lebensjahr und erreicht seinen Höhepunkt nach dem 60. Lebensjahr. [11] Bei Frauen nach der Menopause stellen Herzkreislaufkrankungen die Haupttodesursache dar. Dies korreliert zeitlich mit dem natürlichen Abfall des Östrogenspiegels im Serum mit beginnender Menopause. Liegt der Östrogenspiegel im Blut bei Frauen im gebärfähigen Alter um die 100 pg/ml und bis zu 600 pg/ml während des Ovulationszeitpunktes, so fällt er postmenopausal auf 5 bis 20 pg/ml ab, was dem männlichen Östrogenspiegel entspricht.

Da die Lebenserwartung allgemein steigt, gewinnen die kardiovaskulären Erkrankungen bei Frauen stärker an Bedeutung. [2] In den letzten zwei Jahrzehnten werden zunehmend mehr Studien bezüglich Behandlung und Prävention der Herzkreislaufkrankungen mit weiblichen Probanden durchgeführt. Postmenopausale Frauen zeigen allein aufgrund ihres hormonellen Status ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko. Bis 89% der erlittenen Herzinfarkte bei Frauen treten nach der Menopause auf. [11]

Erklärt wird dieses postmenopausal erhöhte kardiovaskuläre Risiko durch den Verlust der schützenden Östrogenwirkung auf das Gefäßendothel. Verschiedene Studien konnten zeigen, dass Östrogen an spezifische Rezeptoren der Endothelzellen bindet, wodurch die Expression und Aktivität verschiedener Enzyme, prothrombotischer Faktoren und vasoaktiver Mediatoren beeinflusst wird. Dies führt zu einem deutlich reduzierten Arterioskleroserisiko bei prämenopausalen Frauen. [12]

So konnten u.a. Hayashi et al. eine direkte Aktivierung der endothelialen NO-Synthase (eNOS) durch Östrogene feststellen. [13] Walsh et al. zeigten eine Verminderung von LDL-Cholesterin durch Östrogene. [14] Zusätzlich wird dem Östrogen auch eine antioxidative Wirkung in Bezug auf eine verringerte LDL-Oxidation zugesprochen. [15, 16]

Diese komplexen und vielfältigen Einflüsse des endogenen Östrogens auf das Endothel und die damit zusammenhängenden vaskulären Prozesse helfen arteriosklerotischen Veränderungen im Gefäß entgegenzuwirken. Da diese gefäßprotektiven Faktoren mit Einsatz der Menopause und dem damit verbundenen starken Östrogenabfall wegfallen, weisen postmenopausale Frauen im Vergleich zu prämenopausalen Frauen ein höheres Risiko für eine eingeschränkte Endothelfunktion auf. [17, 18]

Dies macht postmenopausale Frauen als Probandengruppe für die vorliegende Studie interessant, in der eine mögliche Verbesserung der Endothelfunktion durch Lycopinzufuhr untersucht wird.

1.1.3 Primärprävention der Arteriosklerose

In Hinblick auf die aufgezählten kardiovaskulären Risikofaktoren besteht die Primärprävention der Arteriosklerose in der Vermeidung bzw. Verringerung der oben genannten beeinflussbaren Risikofaktoren. Hierzu zählt die Aufgabe des Nikotinkonsums, körperliche Aktivität, die Einstellung des Blutdrucks auf einen Wert von $\leq 140/90$ mmHg, Maßnahmen der Gewichtskontrolle und geringer Alkoholkonsum bei Männern < 30 g /Tag und bei Frauen < 20 g/Tag. Hinzu kommt bei ineffektiver Basistherapie eine medikamentöse Therapie zur Blutdruckoptimierung, Diabeseinstellung und Lipidsenkung.

Eine weitere wichtige Rolle in der Prävention kardiovaskulärer Erkrankungen wird der Ernährung zugesprochen, die Gegenstand zahlreicher Untersuchungen ist. In der Regel wird die sogenannte Mittelmeerdiät empfohlen, welche auf der traditionellen mediterranen Küche basiert. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass Menschen in Mittelmeerregionen eine niedrigere Inzidenz an Herz-Kreislauf-Erkrankungen aufweisen. Nachfolgende Studien haben dies auch bei Nichtbewohnern des Mittelmeerraumes nachhaltig belegt. [19] Es wird empfohlen, den Schwerpunkt der Ernährung auf Gemüse, Salat, Obst und, abweichend von der ursprünglichen mediterranen Ernährungsweise, Vollkornprodukte zu legen. Weiterhin werden wenig Fleisch, Olivenöl und maximal ein Glas Rotwein täglich empfohlen. [20] Gebratene, gegrillte und frittierte Speisen sollten möglichst gemieden werden, da sie einen hohen Anteil an gesundheitsschädlichen trans-Fettsäuren enthalten im Gegensatz zu der empfohlenen einfach ungesättigten Ölsäure und den mehrfach ungesättigten Fettsäuren (v.a. Omega-3-Fettsäuren) im Oliven- und Rapsöl sowie im Tiefseefisch. [21] Verschiedene Studien belegen den Zusammenhang zwischen einem reduzierten Auftreten degenerativer Krankheiten und einer regelmäßigen Aufnahme größerer Mengen Gemüse und Obst. Die

wichtigsten kardioprotektiven Effekte werden verschiedenen in Gemüsen und Obst enthaltenen Substanzen wie u.a. den Carotenoiden und Tocopherolen zugeschrieben. [19]

1.2 Lycopin

Lycopin ist ein natürlicher roter Pflanzenfarbstoff und gehört der in der Natur weit verbreiteten Farbstoffklasse der Carotenoide an. Dazu gehören über 700 verschiedene Verbindungen, von denen aber nur ca. 50 in der menschlichen Nahrung zu finden sind. Ähnlich wie andere Carotenoide kann Lycopin nur von höheren Pflanzen und Mikroorganismen synthetisiert werden. Es schützt die Organismen vor schädigenden Auswirkungen durch Licht und Sauerstoff. Der menschliche und tierische Organismus kann Lycopin ausschließlich über die Nahrung aufnehmen. [22, 23]

Lycopin ist ein azyklisches Carotenoid, welches (im Gegensatz zu anderen Carotenoiden, wie z.B. α -, β -Carotin, Lutein und Zeaxanthin) nur in wenigen Nahrungsmitteln zu finden ist. Es kommt vor allem in Tomaten vor, von denen sich auch sein Name ableitet (botanische Bezeichnung für Tomate „*Solanum lycopersicum*“). In der westlichen Ernährung stammen mehr als 85% des aufgenommenen Lycopins aus Tomaten und verarbeiteten Tomatenprodukten. [24]

Auch andere Früchte und Gemüse, wie u.a. Wassermelone, Guave, rote Pomelo und Pink Grapefruit, Papaya, Maracuja, Hagebutte, Sanddorn, Chili und Paprika, enthalten in unterschiedlicher Konzentration diesen roten Carotenoid-Farbstoff. Je nach landesspezifischer Ernährung können diese auch einen Anteil an der Lycopinaufnahme beitragen. [25, 26]

Tomaten stellen somit die Hauptlycopinquelle des Menschen dar. Sie sind neben Kartoffeln auch das am häufigsten verzehrte Gemüse in Europa und machen ungefähr 22% des gesamten Gemüsekonsums in Deutschland aus. Frische Tomaten bestehen zu 95% aus Wasser, außerdem enthalten sie neben den sekundären Pflanzenstoffen, zu denen Lycopin und auch β -Carotin gehören, Mineralstoffe (vor allem Kalium), Spurenelemente und die Vitamine A, B₁, B₂, C und E. Frische Tomaten enthalten im Durchschnitt laut den Ergebnissen von Fröhlich 2007 ca. 4 – 14 mg Lycopin/100 g Nassgewicht (NG), d.h., bezogen auf 100 g Frischmasse. [27] Wie die angegebenen Konzentrationsbereiche zeigen, gibt es große Schwankungen in der Menge des in Frischtomaten enthaltenen Lycopins. Einen Einfluss darauf haben u.a. Wetterbedingungen, Bodenbeschaffenheit, Sortenwahl und Anbaumethoden. [28]

1.2.1 Chemische Struktur

Lycopin gehört zur ersten Hauptgruppe der Carotenoide, den Carotinen. Diese setzen sich ausschließlich aus Kohlenstoff und Wasserstoff zusammen, sind also sauerstofffrei im Gegensatz zu den sauerstoffhaltigen Xanthophyllen (Oxocarotenoide), der zweiten Hauptgruppe der Carotenoide, zu denen Lutein und Zeaxanthin gehören. Die Vertreter der Carotine sind neben Lycopin u.a. auch α - und β -Carotin. Im Gegensatz zu den meisten anderen Carotenoiden, wie α - und β -Carotin und auch Lutein und Zeaxanthin, findet bei Lycopin keine Ringbildung an den beiden Enden seiner Kohlenstoffkette statt. Es hat keinerlei Substituenten gebunden und kann nicht wie einige der Carotenoide zu Vitamin A umgewandelt werden. Lycopin ist ein offenkettiges Polyisoprenoid mit 11 konjugierten und 2 unkonjugierten Doppelbindungen und ein azyklisches Isomer des β -Carotins. Insgesamt enthält es 40 Kohlenstoff-Atome, mit denen es eine symmetrische, offenkettige, ungesättigte Kohlenwasserstoffverbindung bildet. Lycopin wird in folgender Molekülformel ausgedrückt: $C_{40}H_{56}$ (siehe abgebildete Strukturformel, Abb.1.1). In Form dieser Molekülformel wurde Lycopin zum ersten Mal 1932 von Karree bzw. 1933 von Kuhn und Grundmann dargestellt. [29]

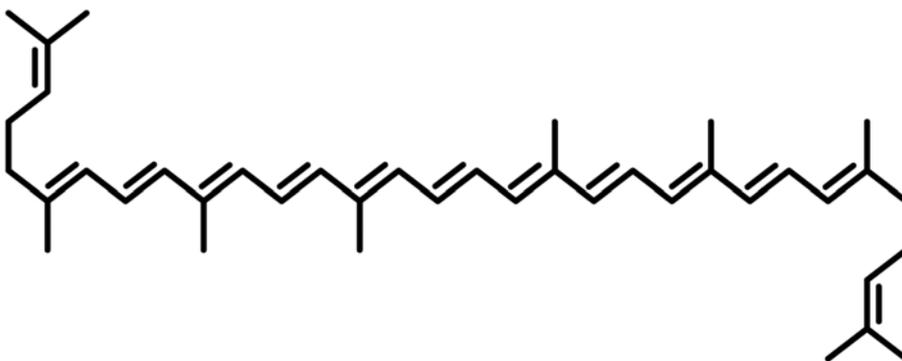


Abb. 1.1: Strukturformel Lycopin

Aufgrund der Doppelbindungen ist das Phänomen der cis-trans-Isomerie zu beobachten. Die Doppelbindungen verhindern die freie Drehbarkeit der Substituenten um die Kohlenstoff-Kohlenstoff-Achse. So kann jede Doppelbindung des Lycopinmoleküls durch 180° -Rotation in zwei Konfigurationen vorliegen, der trans- oder der cis-Konfiguration. Die all-trans-Konfiguration wird nachfolgend als (all-E)-Lycopin und die cis-Konfiguration als (Z)-Lycopin bezeichnet. In Pflanzen und verarbeiteten Lebensmitteln überwiegt chemisch stabileres (all-E)-Lycopin. Dagegen herrscht im menschlichen Organismus allgemein ein Verhältnis von ca. 50% (Z)-Lycopin und 50% (all-E)-Lycopin vor, wobei im Gewebe die (Z)-Lycopinisomere mit 75% überwiegen. [28, 30, 31]

Im Gegensatz zu thermodynamisch sehr stabilem (all-E)-Lycopin können die zum großen Teil sehr instabilen (Z)-Lycopinisomere in vielen verschiedenen mono- oder poly-cis-Konfigurationen vorliegen. Durch diese große Instabilität sind die (Z)-Lycopinisomere in der Natur nur zu einem sehr geringen Teil vorhanden. Nur wenige der bisher identifizierten (Z)-Lycopinisomere konnten genauer auf ihre Struktur hin untersucht werden. Im menschlichen Blut und Gewebe sind dies in erster Linie die Isomere (5Z)-, (9Z)-, (13Z)- und (15Z)-Lycopin. Dabei bildet (5Z)-Lycopin mit 28% den größten Anteil, gefolgt von (13Z)- und (15Z)-Lycopin mit zusammen 12% und anderen (Z)-Lycopinisomeren mit insgesamt 16%. [32] (5Z)-, (9Z)- und (13Z)-Lycopin entstehen, wie auch viele andere (Z)-Lycopinisomere, durch nicht-enzymatische Isomerisierungsreaktionen aus (all-E)-Lycopin. Es wird diskutiert, ob der hohe Anteil von (Z)-Isomeren im humanen Plasma eventuell auf eine Isomerisierung (all-E)-Lycopins durch die sauren Bedingungen des Magens zurückzuführen ist. [33] Bekannt ist, dass Lycopin-(Z)-Isomere besser als (all-E)-Lycopin in den Gallensäuremizellen löslich sind, was evtl. auf ihre höhere Lipidlöslichkeit zurückzuführen ist. In diesem Zusammenhang wird auch überlegt, ob die (Z)-Isomere besser resorbierbar sind als die Lycopin-(all-E)-Isomere. Wodurch es zur unterschiedlichen Verteilung der Lycopinisomere innerhalb des menschlichen Körpers und seiner Organe kommt, ist noch unklar. [30, 34, 35]

1.2.2 Physikalische und (bio)chemische Eigenschaften

Lycopin ist wie auch andere Carotenoide, vor allem Carotine, aufgrund seiner langen Kohlenstoffkette eine äußerst unpolare chemische Verbindung. Es ist dadurch sehr gering in Wasser, aber gut in Lipiden und unpolaren Lösungsmitteln (wie z.B. Hexan und Toluol) löslich. Durch seine Lipophilie und Unpolarität ist Lycopin in den hydrophoben Teilen der Zelle zu finden, kann aber auch durch Anlagerung an Proteine in wässrigem Milieu existieren. Die rote Farbe des Lycopins entsteht durch seine große Anzahl konjugierter Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen. So verringert jede Doppelbindung die Energie, die die Elektronen für den Übergang in einen höheren Energiezustand benötigen, und ermöglicht damit dem Molekül, sichtbares Licht mit zunehmend längeren Wellenlängen zu absorbieren. Lycopin absorbiert den größten Teil des sichtbaren Lichtes und erscheint deshalb rot. Dadurch hat Lycopin wie auch andere Carotenoide ein charakteristisches UV/VIS-Spektrum. [22]

Aufgrund seiner chemischen Struktur ist Lycopin besonders empfindlich gegenüber Licht, Hitze, Sauerstoff und Säuren. Unter Wärmeeinwirkung und Lichtexposition kommt es zur Isomerisierung der (all-E)-Lycopinisomere zu (Z)-Isomeren. Sauerstoff führt zu einer

Oxidation des Lycopins, welche durch Hitze und die Anwesenheit von Metallionen wie Cu^{2+} und Fe^{3+} beschleunigt wird. Säuren führen teilweise zur völligen Zerstörung des Lycopins. [25]

In Studien der Universität Jena konnte gezeigt werden, dass in Tomatenmatrix eingeschlossenes Lycopin hingegen sogar unter Hitze und UV-Einwirkung über längere Zeit stabil bleibt, wohingegen in organischen Lösungsmitteln schon nach wenigen Tagen bzw. Wochen Veränderungen zu beobachten waren. [27]

1.2.3 Stoffwechsel

Die Lycopinaufnahme erfolgt über den Magen-Darmtrakt und nimmt den gleichen Weg wie die Lipidverdauung und auch andere Carotenoide oder fettlösliche Vitamine. Im Duodenum wird aufgenommenes Lycopin zunächst zusammen mit Lipiden (Nahrungsfetten) und Gallensäuren zu Mizellen emulgiert. Diese werden über Enterozyten in die Darmschleimhaut (Mucosa) aufgenommen, was mittels konzentrationsabhängiger, passiver Diffusion geschieht. In Zellen der Darmmucosa wird Lycopin zusammen mit anderen Carotenoiden, Lipiden, Cholesterin und Apolipoprotein B48 in Chylomikronen verpackt. Über die Lymphbahn gelangen die Chylomikronen dann unter Umgehung des portocavalen Kreislaufs in die Blutbahn des Körperkreislaufs. Dort kommt es zum Abbau der Chylomikronen zu sogenannten Chylomikronen-Remnants, welche von der Leber aufgenommen werden, wobei ein Teil gebundenen Lycopins freigesetzt wird und direkt in das extrahepatische Gewebe gelangt. Der überwiegende Lycopinanteil wird in der Leber metabolisiert und aufgrund seiner Lipophilie in VLDL (very-low-density-lipoproteins)- Partikel eingelagert und erneut in die Blutbahn abgegeben. Durch die Umwandlung von VLDL zu LDL erfolgt die letztendliche Lycopinverteilung im Körper zum Großteil über LDL. [36, 37] Die prozentuale Lycopinverteilung in den verschiedenen Lipoprotein-Fractionen des Menschen ergab nach Untersuchungen voneinander unabhängiger Untersuchungsgruppen vergleichbare Ergebnisse von 73 - 76 % gebundenem Lycopin an LDL, 17 % an HDL und 7 - 17 % an VLDL. [38, 39] Es wird angenommen, dass die Aufnahme im Gewebe vermutlich über den LDL-Rezeptor erfolgt. Diese These wird durch die Tatsache unterstützt, dass LDL-rezeptorreiche Organe wie Nebennieren, Leber, Hoden und Prostata auch die höchste Lycopinanreicherung aufweisen. Weiter ist eine Lycopinanreicherung vor allem im Dickdarm und in der Haut zu finden. Nachgewiesen werden konnte Lycopin aber in fast allen Geweben des menschlichen Körpers. [30, 40-42] Auch Fettgehalt und -metabolisierung des Gewebes und dessen schon bestehender Lycopingehalt beeinflussen die lokale Aufnahmemenge. [43]

1.2.4 Metabolisierung

Bei der Erforschung der Metabolisierung von Lycopin im menschlichen Körper wurden Lycopin-Metabolite, sogenannte Lycopenoide gefunden. Dabei handelt es sich um von der Stammverbindung Lycopin abgeleitete Poly-Isoprenoidverbindungen mit einer Länge von weniger als 40 Kohlenstoffatomen. [44]

Einige dieser Lycopin-Metabolite konnten *in vitro* durch Autooxidation identifiziert werden (Apo-14'-Lycopenoid, Apo-12'-Lycopenoid, Apo-10'-Lycopenoid und Apo-6'-Lycopenoid). [45] *In vivo* wurden Apo-6'-Lycopenoid, Apo-8'-Lycopenoid, Apo-10'-Lycopenoid und Apo-12'-Lycopenoid nachgewiesen. [46]

Kurzkettige Lycopinmetabolite scheinen sowohl durch Oxidation freier Radikale, durch Lipooxygenaseaktivität, wie auch carotenoide Spaltungsenzyme entstehen zu können. [47]

Der enzymatische Metabolismus geschieht vor allem durch die β -Carotin-9'10'-Monoxygenase (CMO-II), welche neben anderen Carotenoiden, wie β -Carotin, auch Lycopin zu Apo-10'-Lycopenoid katalysieren kann. Wobei das CMO-II-Enzym nur die (Z)-Lycopinisomere (5Z)- und (13Z)- nicht das (all-E)-Lycopinisomer metabolisiert. Die Metabolisierungsaktivität ist dabei bei (Z)-Lycopinisomeren, im Vergleich zur β -Carotin-Metabolisierung, deutlich höher. [48]

Die Frage, ob die vermutete Wirkung im menschlichen Körper durch Lycopin oder eines seiner Metabolite geschieht, ist Gegenstand der derzeitigen Forschung. Es bestehen Vermutungen, dass die biologische Aktivität durch den Metaboliten Apo-10'-Lycopenoid vermittelt wird. [49]

1.2.5 Bioverfügbarkeit

Die Voraussetzung der Lycopinmetabolisierung im menschlichen und tierischen Körper ist dessen Bioverfügbarkeit nach der Aufnahme. Diese hängt beim Lycopin von verschiedenen Faktoren ab und ist im Vergleich zu anderen Nährstoffen, wie auch innerhalb der Gruppe der Carotenoide, sehr gering. [50]

Ein stark limitierender Faktor der Lycopinverdauung und damit der Bioverfügbarkeit scheint das Einbringen des Lycopins in Chylomikronen in der Dünndarmmukosa zu sein. [51]

Da es sich bei Lycopin um einen stark hydrophoben Stoff handelt, ist die gleichzeitige Aufnahme von Nahrungsfetten essentiell, um ausreichend Mizellen bilden zu können. Nur so kommt es überhaupt zu einer nennbaren Resorption durch die Darmmukosa. [52, 53]

Gleichzeitig hängt die Bioverfügbarkeit von dem Verarbeitungsgrad des Lycopin enthaltenen Lebensmittels ab. [54] Da in Obst und Gemüse enthaltenes Lycopin in kristalliner Form vorliegt und in die Zellstruktur der Chromoplasten eingebunden ist, muss diese Zellstruktur erst aufgebrochen werden, um Lycopin resorbierfähig zu machen. Anders als bei anderen Mikronährstoffen (wie z.B. Vitamin C) steigt somit die Bioverfügbarkeit des Lycopins durch mechanische Verarbeitung oder Erhitzen des Lebensmittels, wie z.B. in Tomatensaft oder -mark, an und der aufgenommene Lycopingehalt wird erhöht. Dementsprechend wird das im Tomatenmark enthaltene Lycopin deutlich besser im menschlichen Körper aufgenommen und führt zu signifikant höheren Plasmaspiegeln als die vergleichbare Lycopinmenge aus frischen Tomaten. [55-58]

Auch die Wechselwirkung mit anderen Carotenoiden beeinflusst die Bioverfügbarkeit von Lycopin. Besonders bei kombinierter Einnahme von Lycopin und β -Carotin, wie es bei Tomaten und Tomatenprodukten der Fall ist, wird die Resorption von Lycopin erhöht, wohingegen die Resorption von β -Carotin nicht beeinflusst wird. [59-61]

Weiter gibt es Ergebnisse, die darauf hindeuten, dass die Aufnahmemenge an Lycopin im menschlichen Körper einem Sättigungsmechanismus unterliegt. So konnten Diwadkar-Navsariwala et al. in ihrer humanen Interventionsstudie zeigen, dass bei einer einmaligen Gabe von Lycopin, unabhängig von der verabreichten Konzentrationsmenge (10 - 120 mg Lycopin), die durchschnittliche Absolutmenge des absorbierten Lycopins mit 4,69 mg bei allen Probanden gleich hoch war. Ein möglicher Hinweis darauf, dass die Sättigung des Absorptionsmechanismus bei ca. 5 mg liegen könnte. [62] Dies würde bedeuten, dass bei steigender Aufnahmemenge, wie auch bei bereits hoher Plasmakonzentration, die prozentuale Aufnahme von Lycopin aus der Nahrung sinkt.

1.2.6 Durchschnittliche tägliche Aufnahme beim Menschen

Lycopin muss über die Nahrung aufgenommen werden, da es nicht vom menschlichen Organismus synthetisiert werden kann. Aussagen über die durchschnittliche tägliche Lycopinaufnahme sind schwierig, da sie auch in der westlichen Welt je nach Land und Kultur unterschiedlich hoch ausfallen. Die durchschnittliche tägliche Lycopin-Aufnahme in Europa liegt zwischen 0,5 und 5 mg/Tag mit Höchstwerten von bis zu 7,5 mg/Tag. [63] Für Deutschland wurde in der nationalen Verzehrstudie von 1998 eine durchschnittliche tägliche Lycopineinnahmedosis von 1,28 mg/Tag ermittelt, eine Studie von 1996 hingegen geht nur von einer durchschnittlichen Einnahmemenge um die 0,55 mg/Tag aus. [64, 65]

Im Vergleich liegen auch andere Länder der westlichen Welt außerhalb Europas bei ähnlich hohem Lycopinkonsum pro Tag. Die unten stehende Tabelle 1.1 zeigt zur Orientierung die ermittelte durchschnittliche tägliche Lycopinaufnahme in einigen Ländern und Kontinenten. Die Werte wurden vorliegenden Veröffentlichungen entnommen. [63-69]

Tabelle 1.1: Durchschnittlicher Lycopinkonsum pro Tag in mg

Land/Kontinent	Lycopineinnahme in mg/d
USA	3,7 – 16,15 (4 versch. Studien)
Kanada	6,4 – 25,2 (2 versch. Studien)
Australien	3,8
Europa	0,5 – 7, 5
Deutschland	0,55 - 1,3
Großbritannien	1,1
Finnland	0,7 – 0,9
Spanien	1,6
Frankreich	4,8
Niederlande	4,9

Es fällt auf, dass die ermittelten Lycopinwerte teilweise, auch bezogen auf das gleiche Land, sehr stark voneinander abweichen. Diese Differenzen im ermittelten durchschnittlichen Lycopinkonsum können, neben unterschiedlichen Ernährungsgewohnheiten, vor allem durch die sehr unterschiedlichen Methoden der Datenerfassung (Ernährungsfragebögen, verwendete Datenbanken, Probandenanzahl, Probandenalter, usw.) erklärt werden. So kann, z.B. bei der Anwendung von Fragebögen zum Lycopinkonsum, davon ausgegangen werden, dass die Verzehrhäufigkeit in der Regel eher überschätzt wird.

Die Verzehrmenge gibt nur einen Richtwert über die täglich aufgenommene Menge an Lycopin, nicht über die daraus resultierenden Plasmaspiegel und den letztendlich vom Körper nutzbaren Lycopinanteil. Dieser hängt sowohl von der Aufnahme durch die intestinale Barriere als auch von der oben beschriebenen Bioverfügbarkeit ab.

1.2.7 Lycopingehalt im menschlichen Organismus

Lycopin ist das im menschlichen Organismus am häufigsten vorkommende Carotenoid mit einem Anteil von 33%, gefolgt von β -Carotin mit 24%, Lutein + Zeaxanthin mit 23%, β -Cryptoxanthin mit 15% und α -Carotin mit 5%. [67] Zu den durchschnittlichen Lycopinplasmakonzentrationen wurden im Rahmen der 2005 durchgeführten EPIC-Studie (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition) u.a. auch deutsche Probandenkollektive untersucht. Die Ergebnisse zeigten Lycopinplasmakonzentrationen von 0,58 $\mu\text{mol/L}$ in den alten Bundesländern und 0,65 $\mu\text{mol/L}$ in den neuen Bundesländern. Für Europa insgesamt wurden Plasmawerte von durchschnittlich 0,72 $\mu\text{mol/L}$ Lycopin ermittelt. [70]

Im internationalen Vergleich verschiedener Studien schwankten die Lycopinkonzentrationen im Humanserum bei normaler Ernährung zwischen maximal 0,82 $\mu\text{mol/L}$ in den USA und mindestens 0,13 $\mu\text{mol/L}$ in den Niederlanden bzw. 0,08 $\mu\text{mol/L}$ in Vietnam. [71-73] Sie können durch eine sehr lycopinreiche Ernährung über einen längeren Zeitraum (Interventionsstudien oder Supplementation, auch sehr hoher Tomatenverzehr in mediterranen Ländern) auf über 1 $\mu\text{mol/L}$ erhöht werden. Selbst bei einer übermäßigen Lycopineinnahme über einen längeren Zeitraum konnten bislang so gut wie keine Lycopinplasma oder -serumkonzentrationen über 1,5 $\mu\text{mol/L}$ beim Menschen ermittelt werden. Es ist also anzunehmen, dass ab einer bestimmten Lycopinplasmakonzentration diese durch weitere Lycopineinnahme nicht mehr zu erhöhen ist, also eine sogenannte Plasmasättigungsgrenze vorliegt. [62, 74] Diese von der Lycopineinnahmemenge unabhängige Plasmasättigungsgrenze konnte in verschiedenen Studien nachgewiesen werden. [39, 55, 75]

Bei der Durchführung von Interventionsstudien ist eine vorherige Senkung des Lycopinplasmaspiegels sinnvoll. Es lässt den Konzentrationsanstieg des supplementierten Lycopins im Plasma genauer bestimmen und vergleichen. Die dafür notwendige Auswaschphase im Sinne einer lycopinfreien Diät lässt sich aus den Plasmahalbwertszeiten des Lycopins ableiten. Es wurden in voneinander unabhängigen Studien verschiedene Plasmahalbwertszeiten zwischen 2 bis 33 Tagen ermittelt. Eine Auswaschphase von mindestens 2 Wochen wurde aufgrund dieser Daten jedoch übereinstimmend als ausreichend betrachtet um eine signifikante Senkung des Lycopinplasmaspiegels erreichen zu können. [55, 58, 76-78]

1.2.8 Eigenschaften und mögliche Wirkmechanismen

Lycopin ist ein natürlicher Pflanzenfarbstoff, der den Pflanzen, in denen er enthalten ist, eine rötliche Farbe verleiht, besonders deutlich in Tomaten und Wassermelonen zu erkennen. Neben der Färbung ist Lycopin auch für die Geschmacksbildung mitverantwortlich. [79] Für Pflanzen ist vor allem die Schutzfunktion wichtig. Lycopin ist wie auch andere Vertreter der Carotenoide am Photosyntheseapparat mitbeteiligt, es absorbiert Licht während der Photosynthese und schützt die Chlorophyllmoleküle vor Oxidationsschäden durch Licht und Sauerstoff. [22, 79]

Neben diesen Eigenschaften ist Lycopin aufgrund seiner vermuteten besonderen protektiven Wirkungen auf den tierischen und menschlichen Organismus in den letzten Jahrzehnten in das öffentliche Interesse gerückt.

Erste Untersuchungen zur Wirksamkeit von Lycopin gab es schon im Jahre 1959. Bestrahlte Mäuse zeigten damals eine höhere Überlebensrate und eine verbesserte Immunresistenz gegenüber bakteriellen Infektionen nach intraperitonealer Lycopinverabreichung. [80]

Mittlerweile deuten zahlreiche epidemiologische und klinische, zum Teil auch Interventionsstudien, darauf hin, dass der Verzehr von Tomaten oder Tomatenprodukten eine chemopräventive Wirkung auf verschiedene chronische Erkrankungen zu haben scheint. [66] Dies sind in erster Linie verschiedene Krebs- und Herz-Kreislauf-Erkrankungen.

Neben seiner vermuteten antikanzerogenen Wirkung steht Lycopin aktuell besonders in Hinblick auf seine kardioprotektive Wirkung im Augenmerk der Forschung. Diese kardioprotektive Wirkung zeigte sich in verschiedenen epidemiologischen Studien. Wegbahnend war in diesem Zusammenhang die EURAMIC-Studie von Kohlmeier et al. [81] Die multizentrisch durchgeführte Fall-Kontroll-Studie untersuchte 662 männliche Patienten kurz nach einem akuten Myocardinfarkt und 717 Kontrollprobanden in 10 europäischen Ländern. Die Probanden wurden hinsichtlich ihrer α -Carotin, β -Carotin, Lycopin und α -Tocopherol-Konzentrationen im Fettgewebe (entnommen mittels einer Feinnadelaspirationsbiopsie) untersucht mit dem signifikanten Ergebnis einer inversen Korrelation (p-Wert von 0,005 und odds ratio von 0,52) zwischen erhöhten Lycopinkonzentrationen (zwischen 0,21 - 0,36 mg/g) und dem Ereignis eines Myocardinfarktes. Nur Lycopin als einziger der untersuchten Stoffe zeigte dieses signifikante Ergebnis in der Studie. [81] Neben dieser bekannten Studie konnte auch in weiteren Human-, Tier-, als auch Zellstudien überzeugend nachgewiesen werden, dass die protektiven Wirkungen des Tomatenverzehrs vor allem auf den Inhaltstoff Lycopin

zurückzuführen sind und nicht auf einen anderen gesundheitsfördernden Stoff in der Tomatenfrucht.

Die Wirkmechanismen von Lycopin im menschlichen Organismus sind zurzeit noch nicht eindeutig geklärt. Bisher galt die antioxidative Wirkung des Lycopins als seine Hauptfunktion, nachdem *in-vitro*-Messungen zeigten, dass das antioxidative Potential des Lycopins sehr stark ist. Es konnte beobachtet werden, dass Lycopin sehr gut reaktive Sauerstoffspezies (ROS) abfangen bzw. „quenchen“ kann. [82] Auch andere freie Radikale, wie Stickstoffdioxid- (NO_2^{\cdot}), Thiyl- (RS^{\cdot}) und Sulphonyl-Radikale (RSO_2^{\cdot}), werden durch Lycopin inaktiviert. Das antioxidative Potential von Lycopin zeigte sich in *in-vitro*-Versuchen doppelt so hoch, wie das antioxidative Potential von β -Carotin und sogar zehnmal höher als das von α -Tocopherol. Der Grund für diese besonders hohe antioxidative Aktivität des Lycopins wird in seiner großen Anzahl an Doppelbindungen durch die Öffnung des β -Ionen-Rings und durch die, im Vergleich zu anderen Carotenoiden, höheren Stabilität des Lycopin-Radikalkations gesehen. [82, 83] Diese Erkenntnisse stammen jedoch größtenteils aus *in-vitro*-Studien, die antioxidative Wirkung *in vivo* ist jedoch mittlerweile umstritten. Nach neueren Erkenntnissen scheint das Lycopinlevel an den Entstehungsorten der ROS und freien Radikalen zu gering zu sein, um eine relevante antioxidative Wirkung ausüben zu können. [84] Ähnlich verhält es sich mit möglichen weiteren Wirkmechanismen, die bisher auch größtenteils *in vitro* beobachtet wurden. Neuere Interventionsstudien geben zwar Hinweise, sind aber insgesamt zu heterogen in Fallzahl, Lycopinkonzentration, Interventionsdauer etc., um vergleichbar zu sein.

Es wurden viele Studien zum Fettmetabolismus des Lycopins und dessen Einfluss auf die LDL-Oxidation, die als Schlüssel der Arterioskleroseentstehung gesehen wird, durchgeführt. Obwohl die Ergebnisse nicht eindeutig waren, zeigte sich ein positiver Trend. Im Rahmen von *in-vitro*-Studien konnte in diesem Zusammenhang gezeigt werden, dass Lycopin mit einer Konzentration von 10 μM die Cholesterinbiosynthese bis zu 73% hemmen kann, bei gleichzeitiger Erhöhung der LDL-Rezeptoraktivität. Auch β -Carotin zeigte eine ähnliche, aber etwas geringere Hemmaktivität der Cholesterinsynthese. [85, 86]

Weitere mögliche Funktionen des Lycopins, vor allem in Bezug auf eine präventive Beeinflussung der Arterioskleroseentstehung, sind Gegenstand der aktuellen Forschung, in die sich auch die hier vorgestellte Studie einreicht.

Es konnte sowohl *in vitro* wie auch im Plasma gezeigt werden, dass Lycopin direkt am PDGF(platelet-derived growth factor)-Rezeptor bindet und damit die Smooth Muscle Cells-(SMCs-) und Fibroblastmigration verhindert. [87] Lo et al. wiesen aber auch nach, dass Lycopin nicht die bFGF (Fibroblast Growth Factor)-und VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)- induzierte Endothelzellmigration inhibiert. [88] Weiterhin wurde dargelegt, dass Lycopin abhängig von der Serumkonzentration (2 - 12 µmol/L) eine Aggregation der menschlichen Thrombozyten verhindern kann. Lycopininjektion in Mesenterialvenen von Mäusen (5, 10 und 20 mg/kg Körpergewicht) führt *in vivo* zu einer signifikant verlängerten Latenzzeit der Thrombusbildung. [89] Diese Studienergebnisse korrelieren mit Ergebnissen der zwei bisher durchgeführten humanen Interventionsstudien zum antithrombotischen Effekt, bei denen es zu einer zeitnahen Inhibierung der Thrombozytenaggregation nach Lycopinzufuhr kam. [90, 91]

Bei der Forschung zur Lycopinwirkung auf das vaskuläre Entzündungsgeschehen wurde bisher sowohl *in vitro*, als auch *in vivo* eine inverse Korrelation zwischen Lycopin und sICAM-1(soluble intercellular adhesions molecule-1) nachgewiesen. Hung et al. zeigten in ihrer *in-vitro*-Studie mit menschlichen Endothelzellen aus der Umbilikalvene (HUVECs), dass die durch TNF- α induzierte sICAM-1-Expression durch Lycopin gehemmt wird, im Gegensatz zur COX (Cyclooxygenase)-2 und PECAM-1 (plateled-endothelial all adhesion molecule-1). [92] Auch die beiden epidemiologischen Studien von Hozawa et al. [93] und von van Herpen-Broekmans et al. [94], die u.a. den Zusammenhang zwischen Lycopin und sICAM-1 untersuchten, zeigten eine signifikant negative Assoziation zwischen hohem Lycopinlevel und niedriger sICAM-1. Die Interventionsstudie von Riso et al. mit 26 gesunden Probandinnen, welche über 26 Tage 5,7 mg Lycopin/Tag mittels eines Lyc-o-Mato-Getränks einnahmen, zeigte eine Verringerung der TNF- α -Produktion um 34,4%. [95]

Auch auf bestimmte Parameter des Immunsystems nimmt Lycopin Einfluss. So konnte u.a. nachgewiesen werden, dass die Supplementierung mit Tomaten- und Karottensaft zu einer Aktivitätserhöhung der natürlichen Killerzellen und Lymphozyten-Proliferation führt und die Bildung von Interleukin-2 und TNF- α verstärkt. [96, 97]

Die Ergebnisse in Bezug auf eine Wirkung des Lycopin auf den Entzündungs-, wie Immun- und Thromboseprozess sind aber insgesamt, aufgrund der sehr geringen Studienzahl, noch nicht sehr aussagekräftig.

Weiterhin gibt es eindeutig positive Ergebnisse des Lycopineinflusses zur Verhinderung von DNA-Schäden, welche aber eher in Richtung Tumorforschung gehen, also an dieser Stelle nicht näher erläutert werden. Nur kurz erwähnt sei der momentane Stand der Forschung, nachdem es Hinweise gibt, dass Lycopin die DNA- Einzelstrangbrüche verringert, wie oben beschrieben evtl. den TNF- α hemmt und auch die bei Tumoren sehr ausgeprägte Angiogenese. [59, 98-100]

Weitere mögliche Wirkungen von Lycopin liegen in der Prävention von Entzündungserkrankungen, rheumatischen Erkrankungen, Immunerkrankungen, Osteoporose (aufgrund des Risikofaktors oxidativer Stress) und Hypertonie. Eine neuere Entwicklung ist die Lycopinanwendung in Kosmetikprodukten zum Schutz der Haut vor Photooxidation durch UV-Strahlen. [24, 66]

1.3 Endothelfunktion

Das Endothel kleidet als einzellige Plattenepithelschicht die Blutgefäße, das Myokard und die Herzklappen aus. Zusammen mit dem subendothelialen Bindegewebe bildet es die Intima (*Tunica intima*) der Blutgefäße. Angrenzend liegt die Media (*Tunica media*), bestehend aus glatten Muskelzellen und der von ihnen synthetisierten Extrazellulärmatrix (Proteoglykane, elastische und kollagene Fasern). Als Einbauhilfe in das umliegende Gewebe dient die dritte Gefäßschicht, die Adventitia (*Tunica adventitia* oder *externa*) bestehend aus Bindegewebe. [101]

1.3.1 Endothelfunktion

Die Aufgaben des Endothels sind sehr vielfältig und differieren in ihren Einzelheiten je nach Gefäßsegment. Die Hauptfunktionen sind Barriere, Schutz vor Thrombose und Inflammation, und Regulierung des Vasotonus.

Das Gefäßendothel trennt den Intravasalraum von tieferen Blutgefäßschichten (verbunden durch Tight junctions, Gap junctions und Adhärenskontakte) und bildet somit eine Diffusionsbarriere. Je nach anatomischer Lage und Organfunktion differiert die Permeabilität des Endothels. Für die Permeabilitätsänderungen verantwortlich sind Tight junctions.

Mit der Barrierefunktion direkt verbunden ist die Fähigkeit der Endothelzellen eine Adhäsion von Thrombozyten und Leukozyten zu verhindern und damit einem inflammatorischen Prozess vorzubeugen.

Gesundes Endothel besitzt antithrombotische Eigenschaften durch Ausbildung fibrinolytischer Moleküle (z.B. plasminogenaktivierender Faktor) und Thrombomodulin (zur Deaktivierung des Thrombins). Es kann die Thrombosierung aber nach Gefäßverletzung auch fördern, z.B. durch Sekretion von-Willebrand-Faktors.

Das vaskuläre Endothel produziert als auto- und parakrines Organ zahlreiche bioaktive Substanzen. Eine Schlüsselfunktion liegt in der Autoregulation des Blutflusses. Ein Mechanismus der durch das Zusammenspiel von größtenteils im Endothel gebildeten vasokonstriktorischen und vasodilatatorischen Mediatoren erreicht wird. Der wichtigste endotheliale Vasodilatator ist der sogenannte EDRF (Endothelium Derived Relaxing Factor), erstmals 1980 von Furchgott et al. [102] als Stickstoffmonoxid (NO) identifiziert. Die bedeutende gefäßerweiternde Wirkung des NO besteht in der Aktivierung der löslichen Guanylatzyklase in den glatten Gefäßmuskelzellen (vascular smooth muscle cell, VSMC). NO wird in Endothelzellen durch das Enzym NO-Synthase (NOS) aus L-Arginin gebildet. Dabei wird die Guanidin-Gruppe der Aminosäure L-Arginin in Gegenwart von Sauerstoff oxidiert und nach mehreren Teilschritten in L-Citrullin umgewandelt, wobei ein Stickstoffatom der Guanidin-Gruppe abgespalten und als NO freigesetzt wird. Wichtige Cofaktoren dieses katalytischen Prozesses sind NADPH, Häm und Tetrahydrobiopterin (BH₄). [103]

Das von den Endothelzellen gebildete NO besitzt nur eine Halbwertszeit von wenigen Sekunden. Diese reicht aber aus, dass NO in die benachbarte Gefäßmuskelzelle diffundieren kann, um dort die gelöste zytoplasmatische Guanylatzyklase zu stimulieren. Deren Aktivierung führt zu einem Anstieg von cyclischem Guanosinmonophosphat (cGMP), gebildet aus Guanosintriphosphat (GTP). cGMP aktiviert als second Messenger die ATP-getriebenen Calciumpumpen in der Zellmembran, woraufhin in Folge verstärkt Calcium aus dem Intrazellularraum in den Extrazellularraum gepumpt wird. Über die Aktivierung von Calcium-ATPasen wird zusätzlich noch Calcium in das sarkoplasmatische Retikulum geschleust. Durch diese cGMP-vermittelte Reduktion der intrazellulären Calciumkonzentration kommt es zur Relaxation der subendothelialen glatten Gefäßmuskulatur. Über die Bindung von ATP, Acetylcholin an Muskarinergen-Rezeptoren, Endothelin-1 an Endothelin-B-Rezeptoren oder Histamin an H1-Rezeptoren am Endothel wird die NO-Freisetzung aus den Endothelzellen gefördert. [104, 105]

Weiterhin wird NO durch je nach Blutfluss auf das Endothel einwirkende Scherkräfte freigesetzt. Diese werden auch als Scherstress bezeichnet und können über folgende Gleichung ausgedrückt werden: $\text{Scherstress} = \text{Viskosität} \times \text{Geschwindigkeit} / \text{Diameter}$.

Die Endothelzellen nehmen Änderungen des Scherstress wahr und synthetisieren daran angepasst vasodilatierende Substanzen, insbesondere NO. So führt ein vermehrter Scherstress im Gefäß durch erhöhte Viskosität und/oder Anstieg der Blutflussgeschwindigkeit zur Ausschüttung von NO aus den Endothelzellen und damit zu einer reaktiven Vasodilatation. Ein weiterer endothelialer Vasodilatator ist der EDHF (endothelium-derived hyperpolarizing factor), welcher durch Bradykinin- oder Acetylcholin-Stimulation aus dem Endothel freigesetzt werden kann. [106]

Neben seiner Hauptwirkung als Vasodilatator besitzt NO im Blutgefäß noch eine Vielzahl weiterer Funktionen. Führt die abluminale NO-Freisetzung aus den Endothelzellen zu einer Relaxation der glatten Gefäßmuskelzellen, so inhibiert die luminale NO-Freisetzung die Thrombozytenaggregation und die Neutrophilen- und Monozytenadhäsion durch Hemmung der zytokininduzierten Expression endothelialer Adhäsionsmoleküle auf der Endothelzelloberfläche. Diese beiden Prozesse verhindern die Bildung gefäßnaher Thromben. Weiterhin verhindert das von den Endothelzellen freigesetzte NO die Proliferation glatter Muskelzellen und die Oxidation von LDL-Partikeln. Alles Vorgänge, denen eine wesentliche Bedeutung in der Pathogenese der Arteriosklerose zukommt. [107]

Zu den vasokonstringierenden Substanzen gehört als Hauptgegenspieler des NOs das vom Endothel gebildete Peptid Endothelin, welches über ETA-Rezeptoren eine Vasokonstriktion bewirkt. Weitere vasokonstringierende Substanzen sind Thromboxan und Prostacyclin, welche auf lokaler Ebene zu einem erhöhten Vasotonus führen, sowie Adrenalin, Angiotensin II und Vasopressin. [105, 108]

1.3.2 Endotheliale Dysfunktion

Unter endothelialer Dysfunktion versteht man eine Funktionsstörung der Regulationsmechanismen des Endothels. Dies führt zu verstärkter Vasokonstriktion, adhäsiven, prothrombotischen und proliferativen Effekten sowie gestörter Permeabilität.

Eine entscheidende Rolle spielt dabei der Mangel an gelöstem Stickstoffmonoxid aufgrund verschiedener biochemischer Pathomechanismen. Ursächlich für einen NO-Mangel können oxidativer Stress, eine Insuffizienz der NO-Synthase und ein relativer L-Argininmangel sein.

Der bedeutendste Pathomechanismus der endothelialen Dysfunktion ist die Insuffizienz der NO-Synthase. Die endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS) ist das katalysierende Enzym der NO-Synthese in den Endothelzellen. Unter bestimmten Bedingungen kann eNOS statt NO gefäßschädigendes Superoxid bilden, wodurch es zu oxidativem Stress und Schäden im Endothel kommt. Die eNOS wird aufgrund dieser Doppelfunktion auch als janusköpfiges Enzym bezeichnet. Zu dieser Fehlfunktion der eNOS kommt es durch eine Entkopplung der enzymatischen Reduktion des Sauerstoffes von der katalytischen Reaktion mit L-Arginin. Dazu führt besonders ein Mangel an Cofaktor BH₄ in den Endothelzellen, bei der ein Sauerstoff-Hämkomplex zerfällt und ein Superoxid-Radikal an Stelle eines NO entsteht. Das gebildete Superoxid reagiert sehr leicht mit dem NO zu Peroxinitrit (ONOO⁻), welches weiter BH₄ abbaut und damit eNOS immer mehr entkoppelt. Es entsteht ein circulus vitiosus. [103]

Auch asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA) spielt bei der eNOS-Entkopplung eine wichtige Rolle. Bei ADMA handelt es sich um ein Endprodukt der posttranslationalen Modifikation, welches durch Methylierung von L-Arginin-Resten gebildet wird. Es konkurriert permanent mit L-Arginin um die Bindungsstelle im katalytischen Zentrum in der eNOS und hemmt damit dessen Funktion. [109] Weiterhin führt eine ADMA-Erhöhung auch zu einem Mangel an L-Arginin, dem Ausgangsprodukt der NO-Synthase. Erhöhte ADMA-Spiegel korrelieren mit den kardiovaskulären Risikofaktoren der LDL-Hypercholesterinämie, dem Diabetes mellitus und der Homocysteinämie. [110-112]

Endotheliales NO kann auch durch oxidativen Stress direkt inaktiviert und damit verringert werden. Hierbei spielen Radikale eine entscheidende Rolle. Unter Radikalen versteht man Atome, Moleküle oder Substanzen, die durch ungepaarte Elektronen auf ihrer äußersten Hülle chemisch sehr reaktiv sind. [113] Besonders zu erwähnen ist hier Sauerstoffsuperoxid oder Superoxidanion (O²⁻), welches Angiotensin-II-vermittelt (AT1-Rezeptor) über eine Aktivitätssteigerung der NADPH-Oxidase entsteht und mit NO zu Peroxinitrit (ONOO⁻) reagiert. Hierdurch kommt es zu einer Inaktivierung und dadurch reduzierten NO-Menge. [114]

Das Zusammenspiel der oben genannten endothelialen Dysfunktionen mit verschiedenen von außen auf das Endothel einwirkenden Faktoren (wie z.B. Radikale und das in den subendothelialen Raum eindringende oxLDL) ist ein wesentlicher Bestandteil bei der Atherogenese und wird teilweise auch als dessen Initiierung angesehen. Somit kann eine gestörte Endothelfunktion als diagnostischer Frühparameter für eine beginnende Arteriosklerose und dem damit einhergehenden erhöhten kardiovaskulären Risiko angesehen werden.

Man bedient sich indirekter Endothelfunktionsmessungen, da es nicht möglich ist, ein erkranktes Endothel morphologisch zu erkennen. Auch eine direkte Messung der NO-Produktion ist sehr problematisch, da das NO nur eine sehr kurze Halbwertszeit von wenigen Sekunden aufweist. Dementsprechend ist eine sichere Quantifizierung des Anteils an abluminal transportiertem NO mit seiner Wirkung auf die glatte Gefäßmuskulatur nicht möglich. Eine indirekte Messung des Anteils an endothelial produziertem NO durch die direkte Erfassung des physiologischen Effektes, der sog. induzierten Vasodilatation hingegen ist möglich. [115]

Die Einschränkung der endothelialen Vasodilatation bildet hier das Hauptbeurteilungskriterium, da es einen der ersten Marker einer endothelialen Dysfunktion darstellt.

1.3.3 Endothelfunktionsmessung

Es gibt sowohl invasive als auch nichtinvasive Verfahren der Endothelfunktionsmessung. Zu den invasiven Methoden gehört der Acetylcholinprovokationstest. Hier werden die vasodilatatorischen Eigenschaften von Gefäßen mittels intraarteriell appliziertem Acetylcholin unter angiographischer Darstellung beurteilt. In Gefäßen mit einer endothelialen Funktionsstörung führt die Injektion von Acetylcholin statt zur Vasodilatation zur Vasokonstriktion. [110]

In der Prävention bieten sich nichtinvasive diagnostische Methoden an, da diese verhältnismäßig einfach durchführbar, kostengünstig und zuverlässig sind, ohne ein großes Risiko für die Probanden darzustellen. Die bekanntesten Methoden sind die Venen-Verschluss-Plethysmographie (VVP) und die flussvermittelte Endothelfunktionsmessung mittels hochauflösenden Ultraschalls, bei denen die NO-induzierte Vasodilatation überprüft wird. [116, 117] Bei der Venen-Verschluss-Plethysmographie, der ältesten nichtinvasiven Messmethode zur Beurteilung der peripheren arteriellen Durchblutung, wird der arterielle Einstrom pro Herzschlag indirekt durch die Volumenzunahme der Extremität gemessen. [118] Weitere nichtinvasive Methoden zur Überprüfung der Endothelfunktion erfolgen anhand peripherer digitaler Pulsdiagnostik, bei der die Pulswellengeschwindigkeit wie auch die Pulswellenamplitude bestimmt werden. Einige Verfahren bedienen sich der Salbutamol induzierten endothelialen NO-Freisetzung, andere der induzierten reaktiven Hyperämie. Man unterscheidet die Brachial-Knöchel-Pulswellengeschwindigkeit (baPWV - brachial-ankle pulse wave velocity), die Pulskonturanalyse (PKA - pulse contour analysis), die Salbutamol-vermittelte Pulswellenanalyse (PWA - pulse wave analysis) und die flussvermittelte Puls-Amplitudenmessung (PAT - pulse amplitude tonometry). [119] Bei der baPWV wird die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Pulswelle von der *A. brachialis* bis zur *A.*

tibialis als Parameter für die arterielle Gefäßsteifigkeit bestimmt. [120] Die PKA wird mittels optischer Plethysmographie und die PWA mittels Tonometrie bestimmt. [121] Und bei der PAT oder auch RH-PAT (reactive hyperemia pulse amplitude tonometry) wird die postischämische Volumenveränderungen des Fingers bei reaktiver Hyperämie gemessen und anhand dessen der sogenannte RH-PAT-Index, als Parameter der Endothelfunktion ermittelt. [122] Weitere nichtinvasive Methoden sind die lasergesteuerte Dopplerflussmessung (laser Doppler flowmetry) und die flussvermittelte kontrastmittelverstärkte Perfusions-Magnetresonanztomographie, die sogenannte MRI (flow-mediated magnetic resonance imaging). Dabei stellt die MRI an den Koronararterien eine im Vergleich zur FMD zwar benutzerunabhängigere, aber wesentlich teurere und aufwändigere, bzw. eingeschränkt verfügbare Methode dar. [123]

Ergänzend können labordiagnostisch die vaskulären Zelladhäsionsmoleküle sVCAM-1 und sICAM-1 oder vWF als Endothelfunktionsmarker bestimmt werden.

Zur Einschätzung des Arteriosklerosisrisikos kann ergänzend der ADMA-Spiegel mittels ADMA-ELISA ermittelt werden sowie weitere Risikoparameter der Arteriosklerose (Glucose, Blutfette, Homocystein, Lipoprotein(a) etc.). Auch die sonographische Bestimmung der Intima-Media-Dicke (IMT) der *A. carotis* kann zur Einschätzung des Gefäßstatus herangezogen werden, wobei eine Endothelfunktionsmessung mit dieser Methode nicht durchführbar ist. [124]

Von den nichtinvasiven Endothelfunktionsmessungen hat sich die flussvermittelte endothelabhängige Endothelfunktionsmessung mittels hochauflösendem Ultraschall (flow-mediated dilation = FMD) als die gängigste Methode zur Beurteilung der peripheren Endothelfunktion durchgesetzt und wurde auch in der vorliegenden Studie als Messmethode angewandt. [119, 125] Diese Methode wurde erstmals 1992 von Celermajer et al. beschrieben. [116]

Corretti et al. stellte 2002 feste Richtlinien für das bis dahin nicht vereinheitlichte Messverfahren der FMD-Messung an der *A. brachialis* auf. [126] In nachfolgenden Studien wurden verschiedene technische Verfahrensweisen der Messung weiter miteinander verglichen und zusätzliche Vorschläge zur Vereinheitlichung des Messverfahrens formuliert. [127-130]

Der Ablauf dieser Messung setzt sich zusammen aus der longitudinalen Darstellung der *A. brachialis* über der Ellenbeuge mittels hochauflösendem Ultraschall (10-14 MHz) im

B-Mode-Bild, einer am Ober- oder Unterarm positionierten Blutdruckmanschette, mittels derer eine 5-minütige suprasystolische Stauung erfolgt, auf die eine reaktive Hyperämie und eine damit verbundene flussvermittelte (scherkraftinduzierte) Steigerung des arteriellen Durchmessers folgt. Diese Änderungen des Gefäßdurchmessers werden über einen Zeitraum von 120 Sekunden im Abstand von 15 Sekunden aufgezeichnet und zu einem späteren Zeitpunkt ausgewertet. Durch den Vergleich des Ausgangsdurchmessers (Ruhedurchmesser) mit dem Durchmesser während der reaktiven Hyperämie errechnet sich die FMD. Diese flussvermittelte Vasodilatation durch die Freisetzung von NO nach reaktiver Hyperämie gibt indirekt Aufschluss über die Endothelfunktion, da man bei einem gesunden Endothel von einer induzierten postischämischen NO-Synthese ausgehen kann. Bei dieser Art der Endothelfunktionsmessung wird somit die flussvermittelte endothelabhängige Vasodilatation nach reaktiver Hyperämie mittels hochauflösenden Ultraschalls gemessen. Die Endothelfunktion wird anhand ihrer Fähigkeit zur NO-Synthese beurteilt, wobei die NO-Freisetzung durch die Steigerung des Blutflusses (postischämisch) und des dadurch kurzfristig erhöhten auf das Endothel einwirkenden Scherstress provoziert wird. Als indirekter Hinweis für die der FMD zugrunde liegende NO-Freisetzung wird die in Studien nachgewiesene Gefäßdiameterzunahme nach der Vorbehandlung mit einem NO-Synthase-Inhibitor gesehen. Mittels sublingualer Applikation von Nitroglycerin wird als Kontrollmessung die nitrovermittelte endothelunabhängige Vasodilatation überprüft (nitro-mediated dilation = NMD). Dieses gesamte Messverfahren kann an der *A. brachialis*, an der *A. femoralis* und der *A. radialis* durchgeführt werden. Am häufigsten durchgeführt wird die Brachialismethode, wie auch in der vorliegenden Studie. [115, 117]

In Studien wurde weiterhin auch die Beziehung zwischen der nichtinvasiv gemessenen peripheren Endothelfunktion und der invasiv gemessenen koronaren Endothelfunktion ermittelt. Hierbei zeigte sich eine signifikante Korrelation bei der Verwendung von Scherstress als Stimulus der NO-Freisetzung. [131] Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die periphere Endothelfunktion morphologisch mit den Herzkranzgefäßen in Beziehung steht und sich bei einer Angina Pectoris-Symptomatik mit bländen Koronararterien in einer verminderten FMD darstellt. [132, 133]

Die FMD ist aber nicht nur bei Patienten mit einer KHK vermindert, sondern auch bei Personen mit kardiovaskulären Risikofaktoren wie Nikotinabusus, Bluthochdruck, Hypercholesterinämie, Adipositas, Hyperhomocysteinämie und Diabetes mellitus. Auch Faktoren

wie das Geschlecht, Alter und familiäre KHK-Vorbelastung können die FMD beeinflussen. [106, 110, 125, 134]

Der prognostische Wert der Endothelfunktionsmessung wurde u.a. durch Neunteufel et al. in einer retrospektiven Studie nachgewiesen, durch Untersuchung von 73 Patienten mit peripherer Arteriosklerose vor und 30 Tage nach einem gefäßchirurgischen Eingriff. [135] Dass die FMD eine gute Methode zur klinischen Risikoabschätzung darstellt, konnten auch Gokce et al. 2003 und Yeboah et al. 2009 in ihren Studien bestätigen. [132, 133]

Eine weitere Studie belegte, dass bei postmenopausalen Frauen mit Bluthochdruck ein deutlich erhöhtes kardiovaskuläres Risiko besteht, wenn deren endotheliale Dysfunktion nach 6 Monaten antihypertensiver Therapie nicht behoben werden konnte. [134] Diese Studien veranschaulichen den prognostischen Wert dieser nichtinvasiven Messmethode zur Einschätzung der Endothelfunktion und damit zur Früherkennung der Arteriosklerose wie auch der koronaren Herzkrankheit.

Nach den Richtlinien einer Expertenkommission wird eine Trainingszahl von 100 Messungen gefordert. Studien konnten zeigen, dass durch eine Trainingsphase von mindestens 30 Echtzeit-Trainingsmessungen unter Supervision eines erfahrenen Ausbilders die intraindividuelle Variabilität der Diameterfassung (gemessen am Median der absoluten Abweichung der Messwerte) auf 0,9% (Spannweite von 0,03% – 1,3%) gesenkt werden und auch bei höherer Untersuchungszahl keine signifikante Verbesserung mehr erreicht werden konnte. Zur Dokumentation der Messgenauigkeit und der Untersucher Genauigkeit sollte deshalb die intraindividuelle Variabilität, der Variationskoeffizient und der Korrelationskoeffizient angegeben werden. [115] Ein weiterer wichtiger Punkt ist, dass die FMD von vielen Faktoren beeinflusst werden kann, wie u.a. tageszeitlichen Schwankungen, Größe des Gefäßes (kleinere Arterien dilatieren stärker als große), hormoneller Status bei Frauen im gebärfähigen Alter, Gewicht, vorherige Aktivität, allgemeine Messbedingungen (wie Raum und Zeit). Bei den Messbedingungen und der Auswertung sollte diesen Einflüssen Rechnung getragen werden. [110]

2 Fragestellung

Die vorliegende Studie wurde im Rahmen eines integrierten Projektes des 6. EU-Rahmenprogrammes: LYCOCARD (Contract no.: 016213), "Role of lycopene for the prevention of cardiovascular diseases" durchgeführt. In dieser Studie wurde der Einfluss des Lycopins auf die Endothelfunktion an postmenopausalen Frauen untersucht.

Zum Zeitpunkt des Studienbeginns Ende 2006 lagen noch keine Interventionsstudien vor, die einen Zusammenhang zwischen Lycopin und Endothelfunktion untersucht hatten.

Ziel dieser randomisierten, einfach verblindeten Interventionsstudie mit cross-over-Design war es zu prüfen, ob sich nach Einnahme einer definierten Tomatenmarkmenge über 7 Tage eine Änderung der Endothelfunktion mittels FMD zeigt.

Folgende Hypothesen sollten anhand der Studienergebnisse überprüft werden:

- Aufgrund der Akkumulation der fettlöslichen Tomateninhaltsstoffe bzw. des Lycopins kommt es nach einer einwöchigen Gabe zu einem erhöhten Plasmaspiegel der Tomateninhaltsstoffe bzw. des Lycopins.
- Tomateninhaltsstoffe bzw. Lycopin führen zu einer messbaren Verbesserung der vaskulären Endothelfunktion.
- Je höher der Plasmaspiegel des Lycopin, desto stärker ist der Effekt auf die Endothelfunktion.

3 Methodik

3.1 Probandenkollektiv

Zur Herausarbeitung von möglichen protektiven Effekten des Lycopin auf die Endothelfunktion wurden als Probandenkollektiv postmenopausale gesunde Frauen gewählt, die aufgrund der Menopause (d.h. Regelblutung über ein Jahr ausgesetzt) und dem dadurch reduzierten Östrogenspiegel ein erhöhtes Risiko einer eingeschränkten Endothelfunktion aufweisen. [11, 12, 17, 18]

Die Rekrutierung erfolgte Ende 2006 über öffentliche Aushänge an allen drei Universitätscampi der Charité Berlin, sowie über eine schon bestehende Probandenkartei aus einer bereits abgeschlossenen Studie, welche über Anzeigen in öffentlichen Tageszeitungen gesucht worden waren.

Die Evaluation erfolgte mittels Telefoninterview und Voruntersuchung. Die Voruntersuchung umfasste neben einer ausführlichen Anamnese die Messung von Größe, Gewicht, Blutdruck und Puls sowie eine einmalige Bestimmung verschiedener Basis-Laborparameter aus dem Blut.

Einschlusskriterien:

- Postmenopausale gesunde Frauen (letzte Regelblutung > 1 Jahr zurückliegend)
- LH /FSH – Quotient < 0,7
- schriftliche Einverständniserklärung nach Aufklärung

Ausschlusskriterien:

- Schwerwiegende medikamentenpflichtige Vorerkrankungen
- Krankheiten, die die Endothelfunktion beeinflussen können (z.B. Vaskulitiden)
- regelmäßige Medikamenteneinnahme (keine Einnahme bis drei Monate vor Studienbeginn)
- Substitution von Nahrungsergänzungsmitteln/Vitaminpräparaten
- Alkoholabusus
- Nikotinkonsum
- Hormonbehandlung (z.B. Hormonpflaster)
- Adipositas (Bodymass Index max. ≥ 31 kg/m²)
- systol. Blutdruck ≥ 140 mmHg

- Hyperlipidämie mit:
 - Ges.-Cholesterin ≥ 275 mg/dl
 - HDL-Cholesterin < 35 mg/dl
 - LDL-Cholesterin > 165 mg/dl
 - Triglyzeride > 140 mg/dl
 - Lipoprotein(a) > 100 mg/dl
 - Homocystein > 15 μ mol/l
- HbA_{1c} $> 6,0$ %
- weitere Blutparameter außerhalb des Normbereichs
- gleichzeitige Teilnahme an weiteren Studien.

Nach Einschluss der Probandinnen erfolgten eine Randomisierung und eine Verblindung mittels einer computergenerierten Kodierung.

3.2 Diät

Vor Beginn der Messphasen mussten alle Probandinnen eine vierzehntägige Lycopin-auswaschphase einhalten. Die Probandinnen bekamen eine genaue Liste der nicht zu verzehrenden Nahrungsmittel. Die lycopinfreie Diät bestand im Verzicht von Tomaten und jeglichen Produkten, welche Tomatenbestandteile enthalten, weiterhin sollten die Gewürze Paprika und Chili, Hagebutten- und Sanddornprodukte, Pfirsiche und Aprikosen sowie die Früchte Maracuja, Rote Pomelo, Pink Grapefruit, Papaya, Guave und Wassermelone vermieden werden. Des Weiteren durften die Studienteilnehmerinnen auch keinerlei Vitaminzusatzpräparate (insbesondere kein Vitamin C oder Vitamin E), keinen Holundersaft sowie keine blauen Trauben (Weintrauben) zu sich nehmen, da diese Produkte die Endothelfunktion beeinflussen können. Diese Diät musste auch während der Messphasen weitergeführt werden. [136]

Zur besseren Überprüfung der Compliance der Probandinnen bezüglich der vorgeschriebenen Diät wurden die Probandinnen gebeten, ein Ernährungsprotokoll, auf einem vorgegebenen Formblatt, über den gesamten Zeitraum der Studie zu führen.

3.3 Messbedingungen

Die Endothelfunktionsmessungen mittels Ultraschall und die nachfolgenden Blutabnahmen fanden immer am Vormittag zwischen acht Uhr und zehn Uhr statt, um Verfälschungen der Messergebnisse durch zirkadiane Schwankungen zu vermeiden. [137]

Die Messungen wurden nüchtern durchgeführt, d.h. die Probandinnen wurden dazu angehalten, zwölf Stunden vorher nichts mehr zu essen, ab dem Vorabend keinen Alkohol, Tee oder Kaffee zu trinken und sich ab dem Vortag keinem übermäßigen Sport auszusetzen, da für alle diese Faktoren ein Einfluss auf die Endothelfunktion bekannt ist. [138-140]

Zur weiteren Vermeidung von aktivitäts- und stressbedingten Messartefakten mussten die Probandinnen vor Beginn der Endothelfunktionsmessung eine halbe Stunde auf der Untersuchungsliege ruhen. [140] Insgesamt wurde auf einen streng standardisierten Messablauf geachtet, um die Fehlermöglichkeiten bei der Endothelfunktionsmessung zu minimieren. [126] Die Endothelfunktionsmessungen wurden immer im selben dafür vorgesehenen ruhigen und während der Messung abgedunkelten Raum durchgeführt. Es wurde auf die korrekte Lagerung der Probandinnen, die Vermeidung einengender Kleidung, eine konstante Raumtemperatur (Klimaanlage), die korrekte Anlage des Messfühlers (speziell angefertigte Armhaltevorrichtung) und die Größe der Staumanschette im Verhältnis zum Oberarm geachtet. [140]

Die genaue Dokumentation und Kennzeichnung des Messpunktes der *A. brachialis* auf dem Probandenarm und die exakte Einstellung des Schallkopfes (Messfühlers) bei jeder Messung sind sehr wichtig, da Schwankungen des Ruhediameters bei der Endothelfunktionsmessung zur Unverwertbarkeit der Messergebnisse führen.

Zur Gewährleistung eines exakten und reproduzierbaren Versuchsaufbaus während der Messung wurden der Arm der Probandin und der Schallkopf in einer eigens für diese Messung konstruierten Armhaltevorrichtung fixiert und deren Einstellung genau dokumentiert (cm-Abstand zur Ellenbeuge, Einstellungswinkel des Schallkopfes). Die größenangepasste Blutdruckmanschette wurde bei jeder Messung am Unterarm der zu messenden rechten Seite angelegt und die Okklusionszeit betrug immer genau 5 Minuten (Abb. 3.3 und 3.4).

Weiterhin wurden alle Endothelfunktionsmessungen vom selben Untersucher durchgeführt, um interindividuelle Abweichungen zu vermeiden. [115]

Beeinflussende Faktoren wie der physische und psychische Zustand der Probandinnen zum Zeitpunkt der Messung waren nur bedingt kontrollierbar. Durch eine Kurzanamnese vor jeder Messung, in der nach körperlichen Symptomen (Erkrankungen/ Fieber/ Beschwerden/ Medikamente) in den letzten vier Wochen, der letzten Nahrungsaufnahme, dem letzten Kaffee-, Tee- oder Alkoholkonsum, der Art der Anreise und dem letztmaligen Sport gefragt

wurde, sollten mögliche störende Einflüsse erkennbar gemacht werden, um so eventuell Messungen auf einen anderen Zeitpunkt verschieben zu können.

3.4 Studienprotokoll

Das Studiendesign entspricht einer randomisierten, einfach verblindeten Interventionsstudie mit cross-over-Design.

Nach der 14-tägigen Lycopinauswaschphase begann die einwöchige Interventionsphase. Während der gesamten Interventionsphase bestand die lycopinfreie Diät weiter fort.

In dem Cross-over Design wurden die Probandinnen entsprechend einem zuvor festgelegten Randomisierungsschlüssel in 2 Gruppen aufgeteilt.

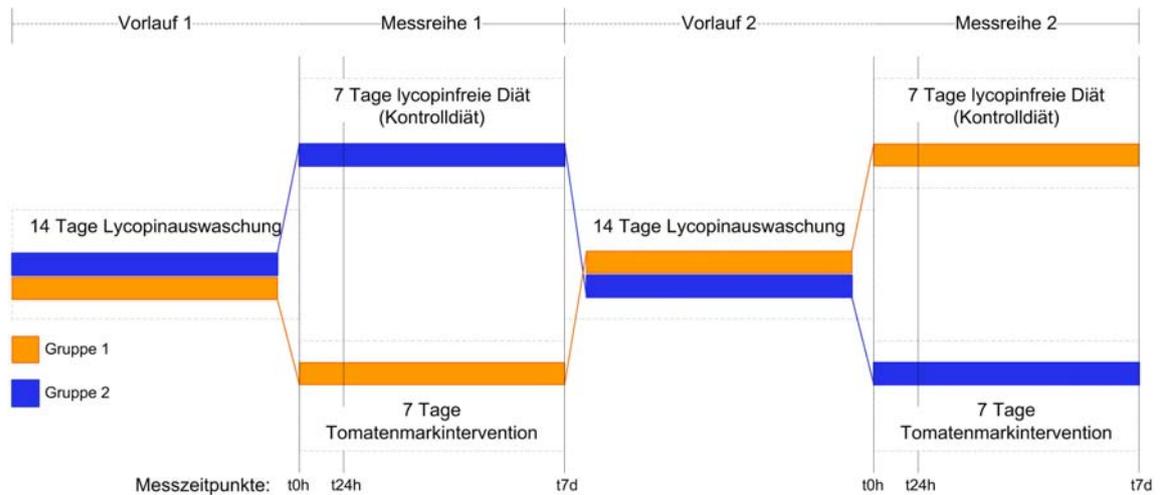
Gruppe 1 begann mit der Tomatensupplementierung, d.h., die Probandinnen nahmen während der ersten Messreihe täglich morgens für sieben Tage 70 g Tomatenmark zu sich (Dose à 70 g zweifach konzentriertem Tomatenmark von „Smartprice“, Wal Mart, Germany). Für die gesamte Studie wurden nur Dosen aus der gleichen Charge (APE4 C 004 3; 31-12-2008 03:00) verwendet. Zur Verbesserung der Aufnahme des lipophilen Lycopins wurde das Tomatenmark zusammen mit einem Weißmehlbrötchen mit 10 g Butter (Meggle Alpenbutter 10 g Portionen) verabreicht.

Gruppe 2 begann mit der Kontrolldiät, bei der während der ersten siebentägigen Messreihe täglich morgens nur das Weißmehlbrötchen mit 10 g Butter ohne Tomatenmark eingenommen wurde.

Nach dem ersten Messzyklus wechselten die Probandinnen in den anderen Studienarm. Vor Beginn des zweiten Messzyklus erfolgte eine erneute 2-wöchige Lycopinauswaschphase. Gruppe 1 nahm nun täglich während der zweiten Messreihe nur das Brötchen mit Butter ein und Gruppe 2 das Brötchen mit Tomatenmark und Butter.

Bei allen Probandinnen (Gruppe 1 und 2) wurden jeweils zwei Messreihen, bestehend aus jeweils drei Endothelfunktionsmessungen und drei Blutabnahmen (immer nüchtern direkt nach der Endothelfunktionsmessung), d.h. insgesamt sechs Blutabnahmen und Endothelfunktionsmessungen durchgeführt. (Abb. 3.1)

Die Messungen wurden zwischen Januar und Oktober 2007 durchgeführt.



Verfeinerung einer Messreihe inkl. Vorlauf (Tomatenmarkintervention):

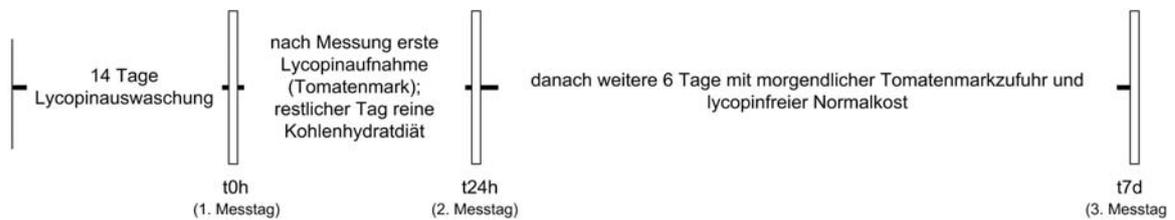


Abb. 3.1: Studiendesign

3.5 Endothelfunktionsmessung

3.5.1 Prinzip der FMD

Die Messung der FMD der *A. brachialis* stellt ein anerkanntes Verfahren zur nichtinvasiven Messung der Endothelfunktion dar. Nach Erfassung des basalen Gefäßdiameters (Ruhediameter) wird mit Hilfe einer beim liegenden Patienten am proximalen Unterarm angebrachten, aufblasbaren Blutdruckmanschette (Abb. 3.2) für 5 Minuten der arterielle Einstrom durch suprasystolische Drücke (mindestens 50 mmHg über dem systolischen Blutdruck) unterbrochen.

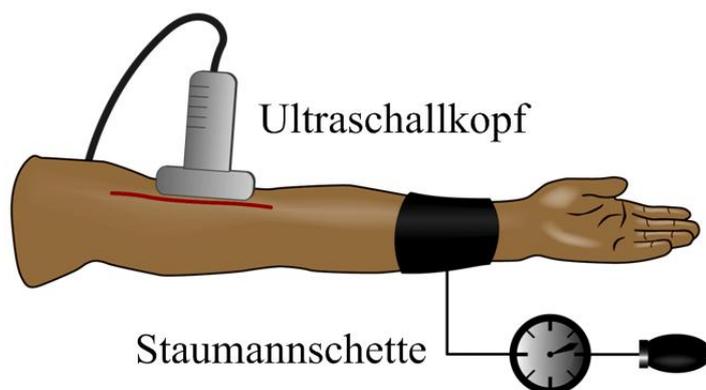


Abb. 3.2: Anordnung von Ultraschallkopf und Staumanschette

Nach Lösen der Manschette führt der vermehrte Bluteinstrom in den postischämisch vasodilatierten Unterarmgefäßen gleichzeitig auch zu einem erhöhten Bluteinstrom in die zuführende Oberarmarterie. Dieser erhöhte Bluteinstrom bewirkt eine Vasodilatation (Maximum im definierten Zeitfenster von 45-60 Sekunden nach Ischämie) durch auf das Gefäßendothel einwirkende Scherkräfte proximal des ischämischen Gebietes. Die postischämische Vasodilatation wird mittels hochauflösendem Ultraschall am Oberarm an der *A. brachialis* erfasst (Abb. 3.2), wobei die prozentuale Zunahme des Gefäßdiameters zum Ruhediameter als Maß der FMD gilt.

3.5.2 Prinzip der NMD

Die Messung der NMD erfolgt zur Kontrolle der Funktion der subendothelialen glatten Muskelzellschicht. Dies ist eine wichtige Kontrollmessung, die nach jeder FMD-Messung durchgeführt wird, da die flussvermittelte oder auch scherkraftinduzierte Vasodilatation nicht nur von einem intakten Endothel, sondern auch von einer ungestörten Partialfunktion der glatten Muskelzellschicht abhängig ist. Das Prinzip der NMD-Messung ist die Induktion einer endothelunabhängigen Vasodilatation, durch die Gabe einer Dosis von 0,4 mg Glyceroltrinitrat (GTN) als Sublingualspray und der nachfolgenden Erfassung des Gefäßdiameters (Dilatation beginnt ca. 3-4 min nach der Gabe). Hierdurch kann die maximal induzierbare endothelunabhängige Dilatation bestimmt werden. Wichtige Grundlage ist ein basaler Gefäßtonus, weshalb die Messung der NMD erst nach einer mindestens 10-minütigen Pause zur FMD-Messung durchgeführt werden sollte. Zu beachten sind dabei Kontraindikationen zur externen NO-Gabe. [116]

3.5.3 Ablauf der Endothelfunktionsmessung (FMD und NMD)

Die Endothelfunktion der Probandinnen wurde mittels hochsensitivem Ultraschall (13 MHz-Schallkopf, Sonographiegerät: Sonoline Antares, Siemens, Germany), nicht-invasiv am Oberarm (Diameter der *A. brachialis*) gemessen. Jede einzelne Endothelfunktionsmessung setzte sich zusammen aus einer Basal-Messung (Ruhemessung vor der induzierten Ischämie), der Messung der FMD nach reaktiver Hyperämie über 2 Minuten und der nachfolgenden Kontrollmessung durch die endothelunabhängige Vasodilatation nach Applikation von Glyceroltrinitrat.

Vor Beginn der Endothelfunktionsmessung wurden die Probandinnen, zur kontinuierlichen EKG-Ableitung für die spätere R-Zacken-getriggerte Auswertung der Messung, an ein 3-Kanal-EKG-Gerät angeschlossen. Sie bekamen am linken, untersuchungsfreien Arm eine Blutdruckmanschette angelegt, welche automatisch über ein angeschlossenes Gerät alle zehn

Minuten den aktuellen Blutdruck erfasste. Der Puls wurde manuell bestimmt. Die Erfassung beider Parameter erfolgte zur Überprüfung stabiler Kreislaufbedingungen und zum Ausschluss einer kreislaufbedingten negativen Beeinflussung der Endothelfunktionsmessung. Danach erfolgte die Eingabe der codierten Daten der jeweiligen Probandin und die sonographische Einstellung der *A. brachialis* im Längsschnitt am rechten Oberarm der horizontal gelagerten Probandin. Zur Fixierung des Ultraschallkopfes und damit reproduzierbaren Einstellung für weitere Messungen wurde der Arm der Probanden in einer extra für die Endothelfunktionsmessung angefertigten kombinierten Arm- und Schallkopfhaltervorrichtung (Haustechniker der Charité Berlin, nach speziellen Vorgaben der Arbeitsgruppe) gelagert. Diese Armschiene ist mit einer fixierbaren Halterung für den Schallkopf versehen und in drei Ebenen verstellbar (Abb. 3.3 und Abb. 3.4).



Abb. 3.3: Arm- und Schallkopfhaltervorrichtung **Abb. 3.4:** Messaufbau

Nach der, für die Probanden vorgeschriebenen, Ruhezeit in Liegeposition und der exakten Einstellung der *A. brachialis* erfolgte eine Messung in Form eines Videoclips (Cine-loop-Aufzeichnung) in Ruhe (B-Bild) und eine Aufzeichnung des Strömungsprofils im cw-Doppler (Ruhedoppler) (Abb. 3.5). Danach erfolgte die FMD-Messung, indem die am Unterarm der Probanden befestigte Staumanschette auf mindestens 50 mmHg über dem systolischen Blutdruck für genau fünf Minuten (Stoppuhr) aufgepumpt wurde. Sofort nach dem Lösen der Stauung wurde ein Videoclip (Doppler) zur Erfassung des postischämisch erhöhten Flusses aufgezeichnet (Abb. 3.6). Danach wurde, beginnend 15 Sekunden nach dem Lösen der Stauung bis 120 Sekunden danach, alle 15 Sekunden EKG-getriggert ein Videoclip vom Gefäßdiameter der *A. brachialis* aufgezeichnet. Nach der FMD-Messung erfolgte eine mindestens 10 minütige Pause. Vor der NMD-Messung erfolgte wiederum eine Ruhemessung (Gefäßdiameter). Dann wurde den Probanden die angegebene Menge von 0,4 mg GTN in Form eines Hubs Nitrospray sublingual verabreicht. Nach der NO-Gabe wurden über fünf

Minuten alle 60 Sekunden der Gefäßdiameter EKG-getriggert in Form eines Videoclips aufgezeichnet.

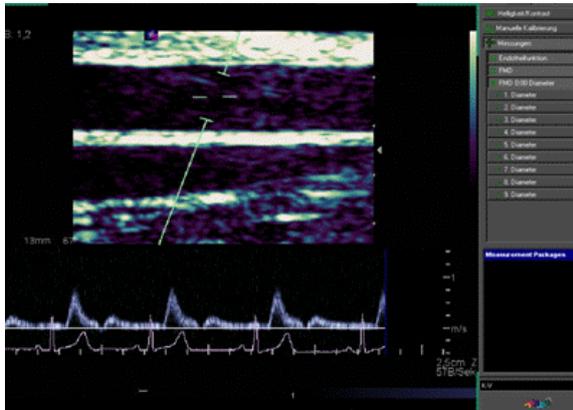


Abb. 3.5: Sonographische Messung an der A. brachialis in Ruhe

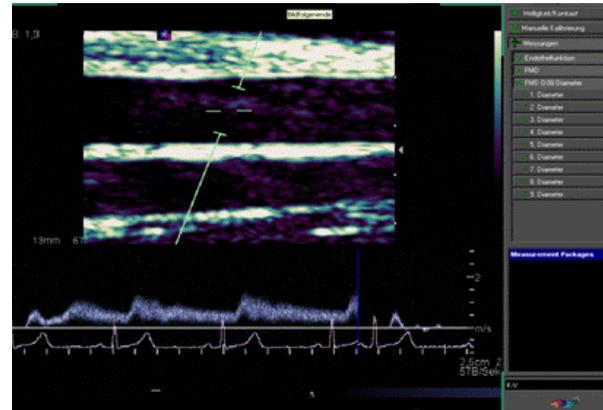


Abb. 3.6: Sonographische Messung an der A. brachialis postischämisch

3.5.4 Gefäßdiameterbestimmung anhand der aufgezeichneten FMD- und NMD-Messungen

Am Ende einer Endothelfunktionsmessung erfolgte die Speicherung der gesamten Aufzeichnungen auf eine CD-ROM, welche mit den verschlüsselten Daten für die Messung versehen wurde, um später, untersucherunabhängig und durch die Kodierung auch für den Auswerter verblindet, ausgewertet werden zu können.

Die Auswertung in Form der Diameterbestimmung erfolgte mittels eines automatisierten Auswertungssystems (Tom Tec Imaging Systems, Siemens, Unterschleissheim) am Computer anhand der im Cine-loop aufgezeichneten Videosequenzen.

Die Diameter-Messung selbst erfolgte nach dem sogenannten leading-edge-Prinzip nach den Kriterien von Wendelhag et al. [141] Dieses Messprinzip beruht auf der Tatsache, dass sich die echogenen Grenzreflexe zwischen Wand und Lumen schallkopffern nach mural und schallkopfnah nach luminal projizieren. Bei der im Längsschnitt proximal der Fossa cubitalis dargestellten A. brachialis wurde ein Gefäßabschnitt aufgesucht, der die klassische Doppelkontur der Gefäßwand gut abbildet. Die nachfolgend durchgeführte Gefäßdiameterbestimmung im Rahmen der Auswertung erfolgte vom Beginn der echogenen Linie der Gefäßwände schallkopfnah (Außenwandreflex) bis zum Beginn der echogenen Linie schallkopffern (Innenwandreflex). Dieses Prinzip ermöglicht das Gewinnen von geräteinstellungsunabhängigen Messwerten. [141]

Bei jeder Cine-loop-Aufzeichnung wurde neunmal der Gefäßdurchmesser bestimmt und danach gemittelt. Durch die EKG-Triggerung der Messungen konnten diese

Diameterbestimmungen genau enddiastolisch koinzident mit der R-Zacke erfolgen, um so Fehlereinflüsse durch pulsatil bedingte Lumenschwankungen zu minimieren. Zusätzlich ermöglichte die EKG-Triggerung eine Aufteilung der neun Diameterbestimmungen auf drei verschiedene Herzzyklen. Durch diese Mehrfachbestimmungen eines gemessenen Gefäßdiameters zu einer bestimmten Zeit (wie z.B. 15 Sekunden nach Stauung) konnte die Variabilität des jeweiligen Messergebnisses wesentlich reduziert werden. [116]

3.6 Analyse der Blutparameter

3.6.1 Probengewinnung

Nach Aufklärung und schriftlicher Einverständniserklärung der Probandinnen erfolgten Blutabnahmen aus der Kubitalvene des linken, nicht untersuchten Armes.

Basal einmalig bestimmt wurde bei allen Probandinnen Blutbild, Nüchternblutzucker und HbA_{1c} (Glykohämoglobin), Harnsäure, Kreatinin und Harnstoff, ASAT (Aspartataminotransferase), ALAT (Alaninaminotransferase) und GGT (Gammaglutamyltransferase), TSH (Thyroidea stimulierendes Hormon), LH (luteinisierendes Hormon), FSH (follikelstimulierendes Hormon), Progesteron und Estradiol, Lipoprotein(a) und Homocystein.

Weiterhin erfolgte bei jedem Messtermin, morgens nüchtern, nach der Endothelfunktionsmessung und vor der diätischen Intervention eine Blutabnahme für folgende Parameter:

- Carotenoide: Gesamt-Lycopin, (all-E)-Lycopin, 5Z-Lycopin, 13+15Z-Lycopin, β -Carotin und Lutein
- Kardiovaskuläre Risikofaktoren: Lipidprofil: Gesamt-Cholesterin, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin und Triglyceride
- Proinflammatorische Parameter: CRP
- α -Tocopherol (Vitamin E) als Parameter der antioxidativen Kapazität.

Pro Untersuchungstag wurden den Probandinnen 40 ml Blut abgenommen.

3.6.2 Bestimmung des Lycopinplasmaspiegels und weiterer Carotenoide im Probandenplasma

Das zur Lycopinplasma-Bestimmung in EDTA-Monovetten abgenommene Blut der Probanden wurde lichtabgeschirmt unmittelbar nach der Entnahme im angrenzenden Labor bei 3500 U/min für 10 Minuten bei 4°C zentrifugiert und als EDTA-Plasma (2 ml) in vier 1,5er Eppendorfgefäße à 500 μ l portioniert und bei -80°C bis zur Analyse schockgefroren.

Die Bestimmung der Lycopinplasmaspiegel und der Plasmaspiegel der weiteren Carotenoide, β -Carotin und Lutein, erfolgte im Institut für Ernährungswissenschaften der Universität Jena.

Die dortige Analyse bestand aus einer Extraktion der Carotenoide mit einem organischen Lösungsmittelgemisch, einer anschließenden Trennung der einzelnen Verbindungen mittels HPLC (High performance liquid chromatography) sowie der darauf folgenden Detektion der Substanzen durch einen Dioden-Array-Detektor. Über einen Vergleich der Retentionszeiten erfolgte die Identifizierung der einzelnen Verbindungen. Die Quantifizierung resultierte aus dem Peakflächenvergleich mit Standardsubstanzen definierter Konzentrationen. Die Konzentrationen der (Z)-Lycopinisomere wurden über den (all-E)-Lycopin-Standard berechnet. [27]

3.6.3 Bestimmung des Tocopherolplasmaspiegels

Die Tocopherolplasmakonzentration wurde, ebenso wie die Lycopinplasmakonzentration, aus schockgefrorenen Proben im Institut für Ernährungswissenschaften der Universität Jena bestimmt. Die dortige Analyse des Gesamt-Tocopherols (Summe aus α -, β -, γ -, δ -Tocopherol) und des α -Tocopherols erfolgte nach Extraktion mit einem organischen Lösungsmittelgemisch mit Hilfe einer Normalphasen-HPLC (Diol-Säule) mit Fluoreszenzdetektion bei einer Säulentemperatur von $50 \pm 1^\circ\text{C}$ mit einer mobilen Phase gemischt aus Hexan und MTBE (Methyl-tert-butylether). [27]

3.6.4 Bestimmung der lipophilen antioxidativen Kapazität

Die in EDTA-Monovetten abgenommenen Blutproben, zur Bestimmung der lipophilen antioxidativen Kapazität, wurden sofort bei 3500 U/min für 10 Minuten bei 4°C abzentrifugiert und in fünf 1,5er Eppendorfgefäßen à 100 μl bei -80°C bis zur Analyse schockgefroren.

Die Bestimmung der antioxidativen Kapazität erfolgte im Institut für Ernährungswissenschaften der Universität Jena.

Die lipophile antioxidative Kapazität des Gesamt-Lycopins, der Gesamt-Carotenoide sowie des Gesamt-Tocopherols und des α -Tocopherols wurden im TEAC-Assay bestimmt. Bei diesem lipophilen TEAC-Assay (Trolox equivalent antioxidant capacity assay) handelt es sich um eine modifizierte lipophile TEAC-Variante nach Miller et al. [142] und Böhm et al. [143], bei der aus dem Radikalbildner ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure)) durch Oxidation mit Mangandioxid das grün gefärbte Radikalkation $\text{ABTS}^{\bullet+}$ gebildet und anschließend durch die Antioxidantien in dem lipophilen Probenextrakt reduziert wurde. Die

daraus folgende Extinktionsabnahme wurde photometrisch bei 734 nm gemessen. Die Ermittlung des TEAC-Wertes erfolgte über die Kalibrierung mit Trolox® (wasserlösliches Vitamin-E-Analogon). Dieser gibt an, welcher Troloxkonzentration (mmol/L) die antioxidative Kapazität der Probenlösung (1 mmol/L) entspricht. [27]

3.6.5 Bestimmung der Lipide und des C-reaktiven Proteins

Die Bestimmung der Lipide und des C-reaktiven Proteins erfolgten nach standardisierten Routineverfahren im Zentralinstitut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie der Charité-Universitätsmedizin Berlin.

3.7 Geräte und Materialien

Verbrauchsmaterialien (Tomatenmarkintervention und Kontrolldiät):

- Tomatenmark, 70 g Dose zweifach konzentriert von „Smartprice“, Wal Mart, Germany, Charge: APE4 C 004 3
- Meggle Alpenbutter, Einzelportion à 10 g
- Fertigback-Weizenbrötchen von Harry Brot.

Endothelfunktionsmessung:

- Siemens SONOLINE ANTARES™
- Kombinierte Arm- und Schallkopfhaltevorrichtung
- Nitrolingual akut Spray (0,4 mg Glyceroltrinitrat).

Auswertung der Endothelfunktionsmessungen:

- Image Arena™, TomTec-Imaging Systems, Unterschleissheim, Deutschland.

Blutprobengewinnung:

- Vacutainer Monovette 6,0 mL EDTA
- Vacutainer Monovette 3,0 mL Heparin
- Vacutainer Blood Collection Systems
- Vacutainer Einmalhalter.

Blutprobenverarbeitung und -lagerung:

- Pipette Eppendorf Research 100 – 1000 µl
- Eppendorf Tubes 1500 µl
- Heraeus Sepatech Megafuge 1.0R.

3.8 Statistik

Die statistische Auswertung der Studienergebnisse erfolgte in Kooperation mit dem Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie der Charité-Universitätsmedizin Berlin.

Die angegebenen Werte (einschließlich der Ergebnisse der Endothelfunktion) in den Tabellen und Texten wurden als Mittelwerte (MW) \pm Standardabweichung (standard deviation - SD) und in den Abbildungen als MW \pm Standardfehler des Mittelwertes (standard error of the mean - SEM) angegeben.

Die gesamte statistische Analyse war zweiseitig mit einem akzeptierten Signifikanzniveau von $p \leq 0.05$. Dazu wurden für alle Parameter gepaarte t-Teste durchgeführt. Auf der anderen Seite wurden gepaarte nichtparametrische Wilcoxon-Tests verwendet.

Zur Analyse des Lycopinplasmaspiegels zu den drei verschiedenen Zeitpunkten der Tomatenmarkintervention wurde eine Ereigniszeitanalyse mit einem linear gemischten Modell angewandt. Bei der Kontrollgruppe wurde in der Analyse dem linear gemischten Modell ein Zufallsgenerator hinzugefügt.

Der Zusammenhang zwischen FMD und Lycopin wurde mittels der Spearman Korrelation untersucht.

Zur Bestimmung der inter- und intraindividuellen Variabilität der Endothelfunktionsmessungen wurde ebenfalls die Spearman-Korrelation verwendet.

Alle statistischen Analysen wurden mit dem Softwarepaket SPSS 15.0 berechnet (SPSS Inc. Headquarters, 233 S. Wacker Drive, 11th floor, Chicago, Illinois 60606). Die Ereigniszeitanalyse wurde mit dem Erweiterungspaket R 2.6.2 ermittelt.

3.9 Ethik

Die hier beschriebene Studie wurde der Ethikkommission der Charité-Universitätsmedizin Berlin vor Studienbeginn vorgelegt und ohne Auflagen genehmigt.

4 Ergebnisse

4.1 Probandenkollektiv

Das Studienprotokoll wurde von insgesamt 19 postmenopausalen Probandinnen im Alter von 47 bis 72 Jahren (im Mittel 58 Jahren, Median 56 Jahre) durchlaufen, bei einer ursprünglich geplanten Anzahl von 20 Teilnehmerinnen. 31 Frauen wurden nach einem Telefoninterview zu einer Voruntersuchung eingeladen. Nach dieser Voruntersuchung konnten 23 den Studienkriterien entsprechende Probandinnen ermittelt werden. 19 Probandinnen durchliefen die Studie vollständig. Eine Probandin musste, wegen wiederholt zu hoher systolischer Blutdruckwerte während der FMD-Messungen nach dem ersten Messzyklus, ausgeschlossen werden, 3 weitere Probandinnen schieden aus verschiedenen persönlichen Gründen kurzfristig vor Messbeginn aus.

In Tabelle 4.1 werden die Basischarakteristika des untersuchten Probandenkollektivs gezeigt.

Tabelle 4.1: Basischarakteristika und Laborparameter (Voruntersuchung) der Probandinnen (n=19)

Parameter	MW ± SD	Min. - Max.
Alter (Jahre)	58 ± 6	47 - 72
BMI (kg/m ²)	25 ± 3	20 - 31
Systolischer Blutdruck (mmHg)	115 ± 10	98 - 136
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	70 ± 6	57 - 80
Ruhepuls (Herzschlag/min)	61 ± 7	49 - 77
Gesamtcholesterin (mg/dl)	199 ± 29	157 - 271
HDL-Cholesterin (mg/dl)	79 ± 17	52 - 116
LDL-Cholesterin (mg/dl)	122 ± 26	83 - 163
Triglyzeride (mg/dl)	79 ± 23	48 - 135
Lipoprotein a (mg/dl)	24,9 ± 28,5	< 3,0 - 95,8
Homocystein (µmol/l)	9,4 ± 2,1	5,1 - 12,9
HbA1c (%)	5,6 ± 0,3	5,0 - 6,1
CRP (mg/dl)	0,13 ± 0,13	0,02 - 0,54
LH (IU/L)	30,5 ± 0,6	7,2 - 50,2
FSH (UI/L)	69,9 ± 1,5	16,5 - 119,4
Progesteron (nmol/L)	1,5 ± 0,0	0,7 - 2,8
Estradiol (pmol/L)	64 ± 3	< 37 - 254
TSH (mUI/L)	1,14 ± 0,03	0,45 - 2,16

Bei 5 Probandinnen lagen die Lipoprotein(a)-Werte unter der Nachweisgrenze, weshalb bei der Berechnung der niedrigste nachweisbare Wert (3,0 mg/dl) verwendet wurde. Genauso wurden die Estradiolwerte behandelt (10 Probandinnen unter der Nachweisgrenze; niedrigster nachweisbarer Wert 37 pmol/l).

Da zum Zeitpunkt der Studie (2006/2007) der HbA1c-Wert standardmäßig noch in Prozent angegeben wurde, sind die HbA1c-Werte in dieser Arbeit nicht dem aktuellen Standard (mmol/mol Hb) entsprechend angegeben.

4.2 Lycopingehalt im Tomatenmark

Das verabreichte Tomatenmark wurde vor Beginn der Studie vom Institut für Ernährungswissenschaften der Universität Jena auf seinen Lycopingehalt hin untersucht (siehe Tabelle 4.2). Es wurden zum Vergleich noch weitere Tomatenmarkprodukte auf ihren Lycopingehalt hin untersucht. Da die Lycopingehalte unterschiedlicher Tomatenmarkprodukte sowie unterschiedlicher Chargen eines Produktes nur geringfügig variierten [27], entschied man sich aus praktischen Gründen für das verwendete Produkt. Zur Demonstration der Varianz zwischen verschiedenen Tomatenmarkprodukten dient Tabelle 4.3.

Tabelle 4.2: Smartprice Tomatenmark (Januar 2006), Zutaten: Tomaten, Salz.
Lycopin-Gehalt in mg/100g Frischmasse

	„Smartprice“ 2-fach konzentriert 70 g Dose (mg/100g)
(Gesamt)-Lycopin	65,91 ± 1,52
(all-E)-Lycopin	60,60 ± 2,17
(Gesamt)-β-Carotin	2,58 ± 0,15
(all-E)-β-Carotin	2,00 ± 0,10

Die Tabelle zeigt den Lycopingehalt in mg/100g Tomatenmark, das bedeutet 100 g Frischmasse des verwendeten Tomatenmarkproduktes enthielten 65,91 mg (\pm 1,52 mg) Gesamt-Lycopin. Durch die tägliche Supplementierung von 70 g Tomatenmark während der Interventionsphase, nahmen die Probanden somit pro Tag durchschnittlich 46,2 mg Lycopin zu sich. Im Verlauf der gesamten 1-wöchigen Tomatenmarkintervention wurden somit insgesamt ca. 323,4 mg Gesamt-Lycopin pro Proband verzehrt.

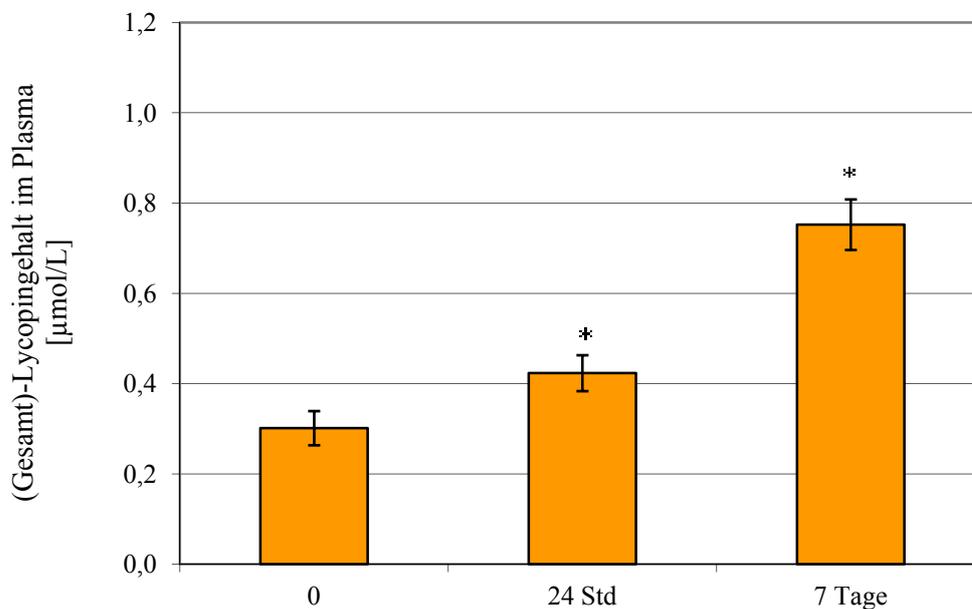
Tabelle 4.3: Tomatenmarkprodukte (Januar 2006) Gehalte in mg/100g Frischmasse

	„Natura Verde“ 2-fach konzentriert 70 g Dose (mg/100g)	„Classic“ 2-fach konzentriert 70 g Dose (mg/100g)	„Smartprice“ 3-fach konzentriert 200 g Tube (mg/100g)
(Gesamt)-Lycopin	68,74 ± 2,25	67,83 ± 0,54	67,45 ± 2,26
(all-E)-Lycopin	63,98 ± 2,18	62,43 ± 0,58	63,02 ± 2,08
(Gesamt)-β-Carotin	2,41 ± 0,19	1,83 ± 0,02	2,66 ± 0,05
(all-E)-β-Carotin	1,92 ± 0,14	1,36 ± 0,03	1,88 ± 0,05

MW \pm SD

4.3 Lycopinplasmaspiegel

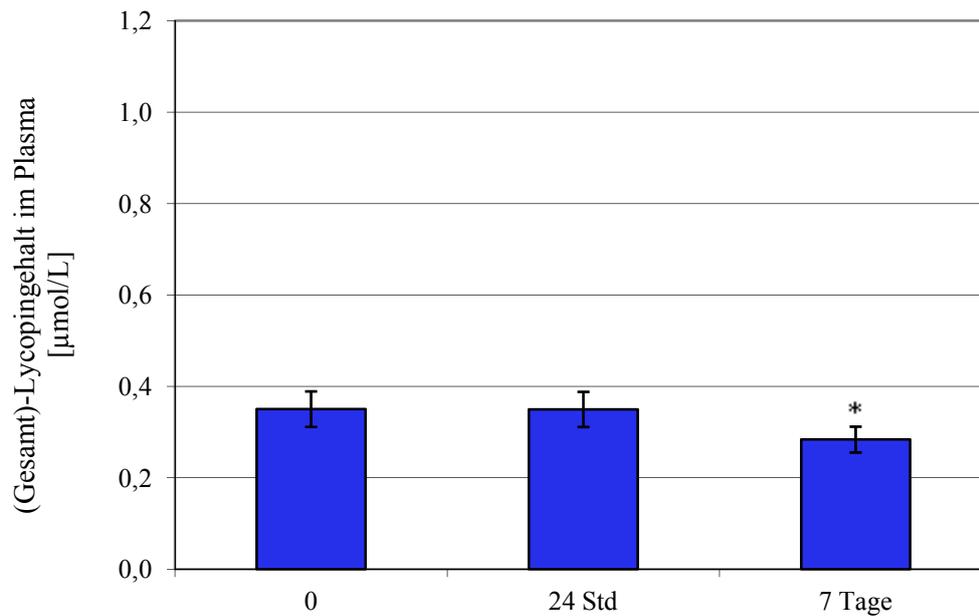
Die Bestimmung des Lycopinplasmaspiegels erfolgte zu drei Messzeitpunkten in der Tomatenmarkinterventions- und Kontrollgruppe: Bei Studienbeginn nach einer 14-tägigen Lycopinkarenz (t0h), 24 Stunden nach der ersten Lycopineinnahme (t24h) und am Ende der 7-tägigen Lycopineinnahme bzw. Kontrolldiät (t7d). Die Tomatenmarksupplementierung führte im Gegensatz zur Kontrolldiät zu einem deutlichen Anstieg der mittleren Gesamt-Lycopinplasmakonzentration. Es zeigte sich ein signifikanter Anstieg des Lycopingehaltes im Plasma der Tomatenmarkinterventionsgruppe nach 24 Stunden von 38 % und nach 7 Tagen von 145 % im Vergleich zum Lycopinplasmagehalt der Kontrollgruppe. Dies bedeutet, der zu Interventionsbeginn (t0h) und Interventionsende (t7d) gemessene Lycopinplasmaspiegel unterschied sich signifikant bezogen auf die unterschiedliche Zufuhr. Unter der Tomatenmarkeinnahme stieg der Lycopinplasmaspiegel signifikant im Vergleich zur Kontrolldiät an. In der Kontrollgruppe zeigte sich ein signifikanter Abfall nach 7 Tagen. Der Lycopinplasmaspiegel der Tomatenmarkinterventionsgruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt t0h, t24h und t7d ist in den unten stehenden Abbildungen 4.1 und 4.2 dargestellt.



n=19, MW ± SEM

* signifikanter Anstieg im Vergleich zum Ausgangswert (p < 0,05)

Abb. 4.1: Lycopinplasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten der Interventionsgruppe



n=19, MW \pm SEM

* signifikanter Abfall im Vergleich zum Ausgangswert ($p < 0,05$)

Abb. 4.2: Lycopinplasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten der Kontrollgruppe

Der nachstehenden Tabelle 4.4 ist zu entnehmen, dass die mittlere Gesamt-Lycopinplasmakonzentration 24 Stunden (t24h) nach Erstsupplementation um ca. 40,5 % und nach 7-tägiger Tomatenzufuhr (t7d) auf über das Doppelte im Vergleich zur Basismessung (t0h) gestiegen ist. Im Gegensatz zum Lycopinplasmaanstieg unter der Tomatenmarkzufuhr sank der Lycopinplasmaspiegel unter der Kontrolldiät geringfügig ab um ca. 18,9 % (t7d).

Tabelle 4.4: Gesamt-Lycopinplasmakonzentration

	Zeitpunkt	Lycopinplasmakonzentration ($\mu\text{mol/l}$)
Interventionsgruppe	t0h	0,301 \pm 0,1694
	t24h	0,423 \pm 0,1781
	t7d	0,752 \pm 0,2504
Kontrollgruppe	t0h	0,350 \pm 0,1742
	t24h	0,350 \pm 0,1719
	t7d	0,284 \pm 0,1270

MW \pm SD

Die nachfolgende Abbildung 4.3 veranschaulicht, dass es bei jeder der 19 Probandinnen zu einem deutlichen Anstieg des Lycopinplasmaspiegels nach der 1-wöchigen Tomatenmarkintervention kam.

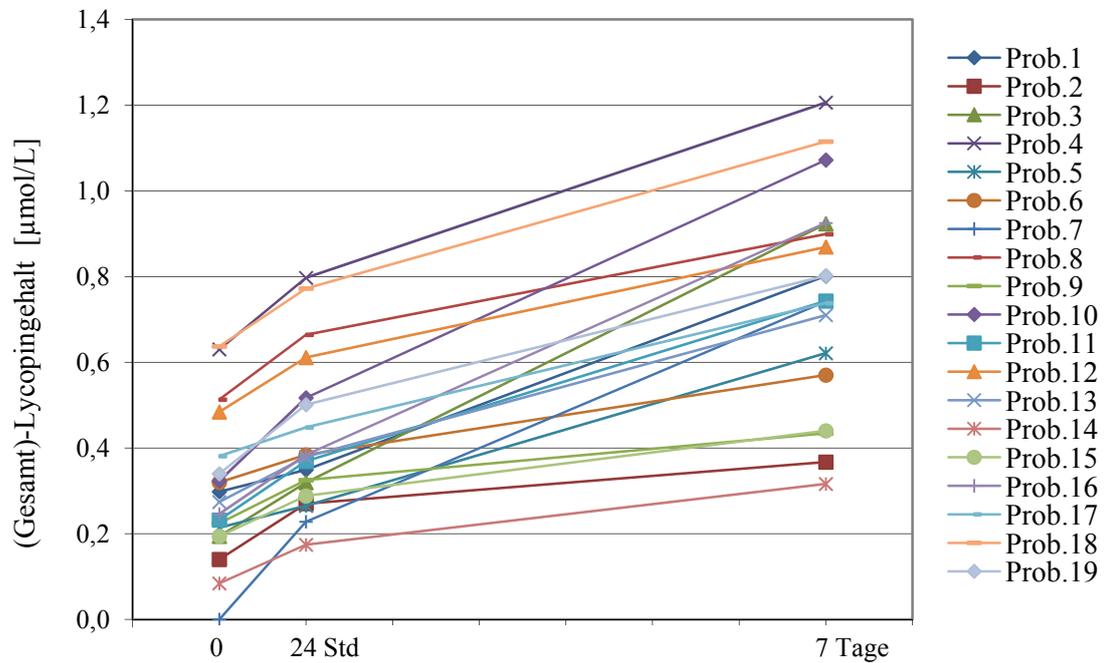


Abb. 4.3: Lycopinplasma-Anstieg (Absolutwerte in $\mu\text{mol/L}$) bei allen Probandinnen während der 1-wöchigen Tomatensupplementierung

In der nachfolgenden Tabelle 4.5 sind zur weiteren Übersicht auch die Mittelwerte der einzelnen Lycopin-Isomere, die neben dem Gesamt-Lycopin im Probandenplasma untersucht wurden, detailliert aufgelistet.

Tabelle 4.5: Plasmakonzentrationen der Lycopin-Isomere zu allen Messzeitpunkten der Interventions- und Kontrollgruppe (n=19)

	Messzeitpunkt	Lycopin-Isomer	Plasmakonzentration ($\mu\text{mol/L}$)
Interventionsgruppe	t0h	(all-E)-Lyc	0,102 \pm 0,051
		(5Z)-Lyc	0,115 \pm 0,068
		(13Z+15Z)-Lyc	0,069 \pm 0,037
	t24h	(all-E)-Lyc	0,169 \pm 0,057
		(5Z)-Lyc	0,138 \pm 0,064
		(13Z+15Z)-Lyc	0,100 \pm 0,038
	t7d	(all-E)-Lyc	0,329 \pm 0,109
		(5Z)-Lyc	0,200 \pm 0,066
		(13Z+15Z)-Lyc	0,190 \pm 0,06
Kontrollgruppe	t0h	(all-E)-Lyc	0,112 \pm 0,055
		(5Z)-Lyc	0,138 \pm 0,059
		(13Z+15Z)-Lyc	0,084 \pm 0,048
	t24h	(all-E)-Lyc	0,108 \pm 0,055
		(5Z)-Lyc	0,136 \pm 0,059
		(13Z+15Z)-Lyc	0,085 \pm 0,046
	t7d	(all-E)-Lyc	0,086 \pm 0,038
		(5Z)-Lyc	0,109 \pm 0,049
		(13Z+15Z)-Lyc	0,066 \pm 0,037

MW \pm SD

4.4 Endothelfunktionsmessung mittels FMDmax

Durch das cross-over-Design der Studie erfolgte die Messung der FMDmax bei jeder der Studienteilnehmerinnen insgesamt sechsmal: vor Beginn der 1-wöchigen Behandlung (t0h), nach 24 Stunden (24h) und am Ende der Behandlung (7d), sowohl während der Tomatenmarksupplementierung als auch während der Kontrolldiät.

Zur Gewährleistung vergleichbarer Messergebnisse der einzelnen Messungen, sollte der Ruhediameter der *A. brachialis* einer Probandin möglichst konstant sein. [126] Eine breite Varianz der Ruhediameter zwischen den einzelnen Probandinnen ist natürlich. Der kleinste gemessene Ruhediameter der untersuchten Probandinnen lag bei 0,27 cm und der größte bei 0,40 cm.

Die intraindividuelle Varianz der Ruhediameter betrug lediglich $\pm 0,01$ cm bis maximal $\pm 0,03$ cm (Ausnahme eine Probandin mit $\pm 0,05$ cm Abweichung), so dass die Ergebnisse gut miteinander vergleichbar sind.

Die während der Untersuchung gemessenen Blutdruck- und Herzfrequenzwerte waren insgesamt normwertig und keinen Schwankungen unterlegen.

4.4.1 Untersucherabhängige Variabilität

Eine weitere Voraussetzung zur Gewinnung zuverlässiger und vergleichbarer Messdaten ist eine geringe untersucherabhängige Variabilität, sowohl bei der Erhebung als auch bei der Auswertung der Messdaten (siehe Kapitel 1). Diese kann mithilfe des Intraklassenkorrelationskoeffizienten beurteilt werden. [115]

Bei der Messung des Ruhediameters der *A. brachialis* betrug der Intraklassenkorrelationskoeffizient, der die intraindividuelle Variabilität eines Untersuchers zwischen verschiedenen Messungen angibt, 0,99. Er unterscheidet sich damit geringfügig vom Intraklassenkorrelationskoeffizient, der die interindividuelle Variabilität zwischen verschiedenen Untersuchern beschreibt, welcher bei der Ruhediametermessung 0,98 betrug.

Bei der Messung der FMDmax der *A. brachialis* lagen beide Intraklassenkorrelationskoeffizienten (intraindividuelle und interindividuelle Untersuchervariabilität) bei 0,99.

4.4.2 FMDmax zu allen Messzeitpunkten der Interventions- und Kontrollgruppe

Die FMDmax zum Zeitpunkt t0h, d.h., nach der 14-tägigen Lycopinkarenz vor Beginn der Intervention (Tomatenmarksupplementierung, bzw. Kontrolldiät) zeigte bei den Probandinnen ausgedehnte inter-individuelle Streuungen, von 2,9 %iger bis zu 14,8 %iger Steigerung des Gefäßdiameters postischämisch, im Vergleich zum Wert des Ruhedurchmessers vor der Stauung.

Bei den FMDmax-Werten der Tomatenmarkinterventionsgruppe konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den FMDmax-Werten zum Zeitpunkt 0 (t0h), den FMDmax-Werten

nach einmaligem Tomatenmarkkonsum (t24h) und den FMD_{max}-Werten nach 7-tägigem Tomatenmarkkonsum (t7d) gezeigt werden (Tabelle 4.6 sowie Abb. 4.4).

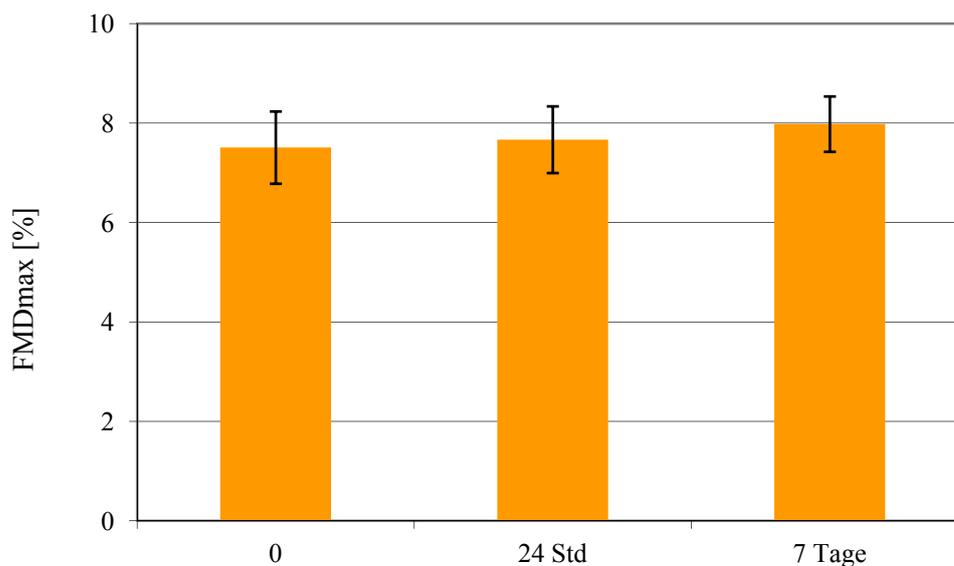
Tabelle 4.6: Arteriendurchmesser und FMD_{max} zu allen Messzeitpunkten

	N	Interventionsgruppe			Kontrollgruppe		
		t0h	t24h	t7d	t0h	t24h	t7d
Ruhedurchmesser (mm)	19	3,25 ± 0,03	3,19 ± 0,03	3,23 ± 0,03	3,31 ± 0,03	3,22 ± 0,02	3,27 ± 0,03
Durchmesser_{max} (mm)	19	3,49 ± 0,03	3,44 ± 0,04	3,48 ± 0,03	3,51 ± 0,03	3,47 ± 0,03	3,51 ± 0,03
FMD_{max} (%)	19	7,51 ± 3,17	7,67 ± 2,93	7,98 ± 2,43	7,13 ± 2,86	7,93 ± 3,50	7,35 ± 2,87

MW ± SD

Ebenso konnten keine signifikanten Unterschiede bei den FMD_{max}-Werten zu den drei verschiedenen Zeitpunkten (t0h, t24h und t7d) innerhalb der Kontrollgruppe nachgewiesen werden (Tabelle 4.6 sowie Abb. 4.5).

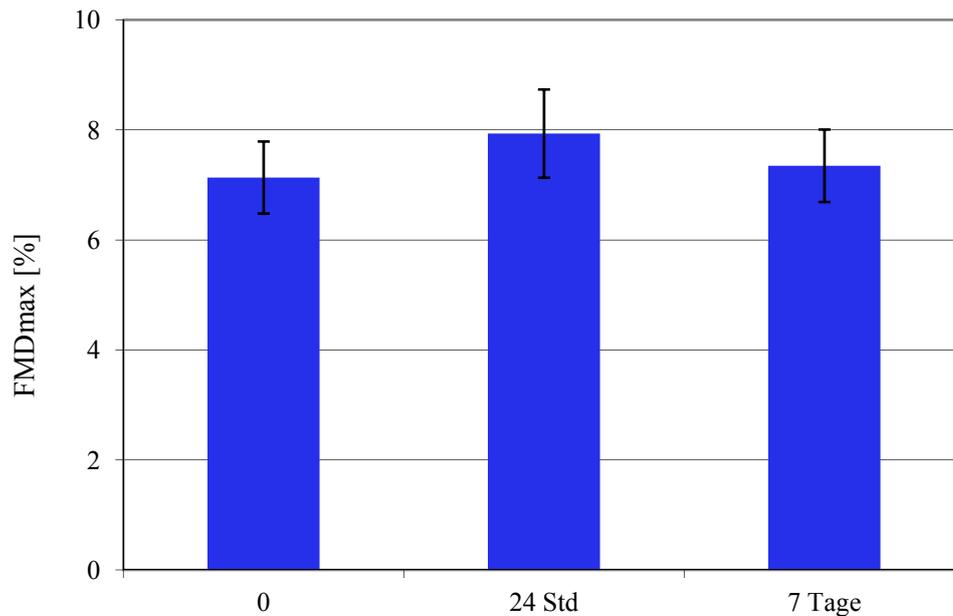
Im Vergleich Tomatenmarkinterventionsgruppe versus Kontrollgruppe konnte ebenso kein signifikanter Unterschied zwischen den FMD_{max}-Werten gezeigt werden.



n=19, MW ± SEM

alle gepaarten t-Tests ergaben keinen signifikanten Unterschied

Abb. 4.4: FMD_{max} zu allen Messzeitpunkten der Interventionsgruppe



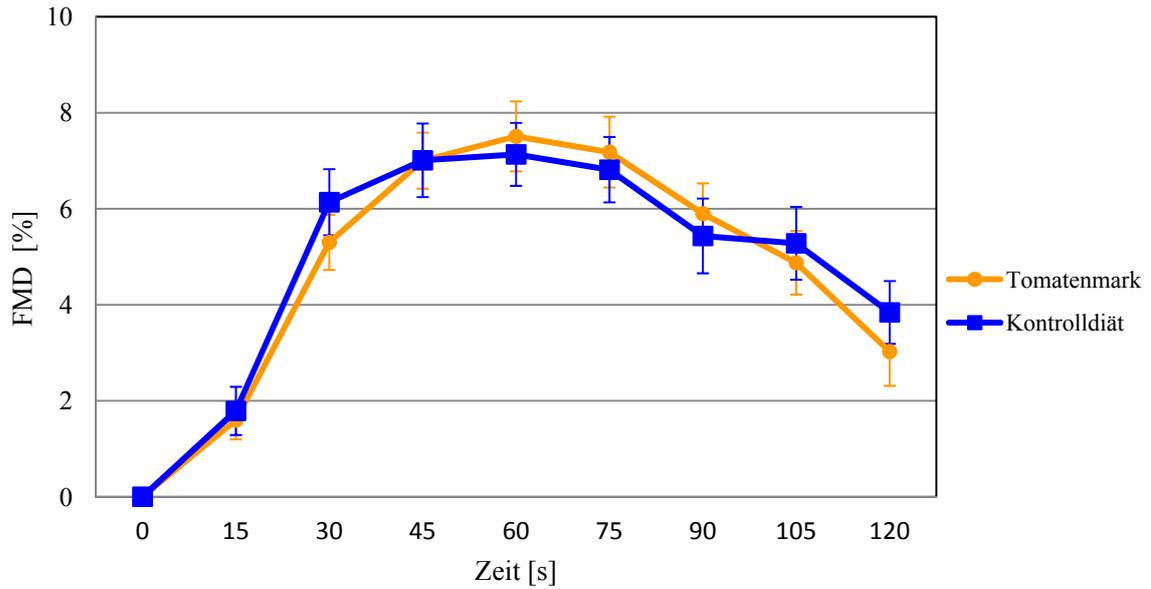
n=19, MW \pm SEM

alle gepaarten t-Tests ergaben keinen signifikanten Unterschied

Abb. 4.5: FMDmax zu allen Messzeitpunkten der Kontrollgruppe

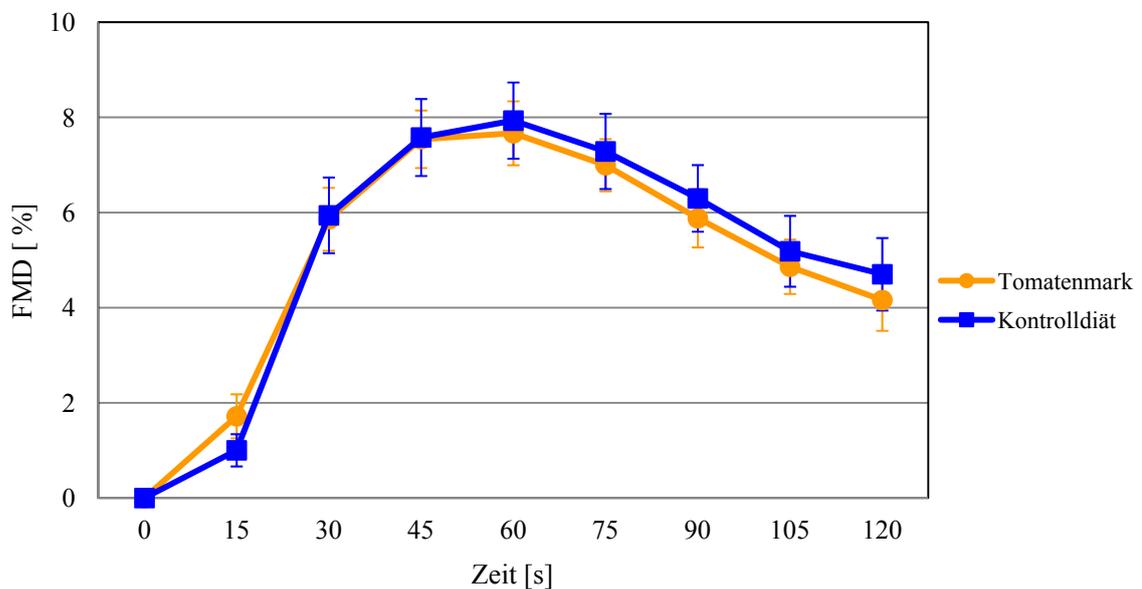
4.4.3 Zeitverlauf der FMD

Zur Bestimmung der FMDmax wurde während der FMD-Messung über einen Zeitraum von 2 Minuten alle 15 Sekunden der Diameter der *A. brachialis* ermittelt. Bei der Darstellung des daraus resultierenden Zeitverlaufes zeigt sich, dass die maximale Vasodilatation unabhängig von der Art der Behandlung (Tomatenmarksupplementierung und Kontrolldiät), zu allen drei Untersuchungszeitpunkten (t0h, t24h, t7d) jeweils nach 60 Sekunden erreicht wurde (Abb. 4.6, Abb. 4.7 und Abb. 4.8). Bei allen Untersuchungszeitpunkten nahm der mittlere Gefäßdurchmesser 2 Minuten nach Ablassen der Stauung wieder deutlich ab, wobei jedoch nicht die Ausgangswerte (Ruhediameter) erreicht wurden.



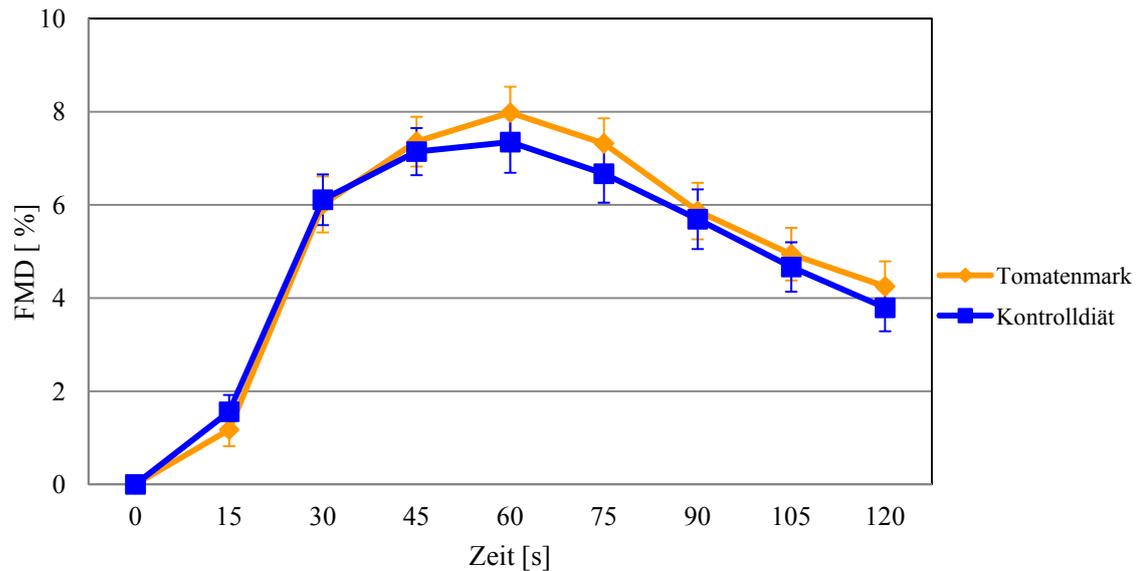
n=19, Mittelwerte \pm SEM

Abb. 4.6: FMD über 2 Minuten alle 15 Sekunden zu Beginn der Behandlung (t0h) (Tomatenmarkintervention vs. Kontrolldiät)



n=19, Mittelwerte \pm SEM

Abb. 4.7: FMD über 2 Minuten alle 15 Sekunden 24 Stunden nach Beginn der Behandlung (t24h) (Tomatenmarkintervention vs. Kontrolldiät)



n=19, Mittelwerte \pm SEM

Abb. 4.8: FMD über 2 Minuten alle 15 Sekunden zum Abschluss der 1-wöchigen Behandlung (t7d) (Tomatenmarkintervention vs. Kontrolldiät)

4.5 Endothelfunktionsmessung mittels NMDmax

Im Anschluss an die FMD erfolgte die Messung der NMD.

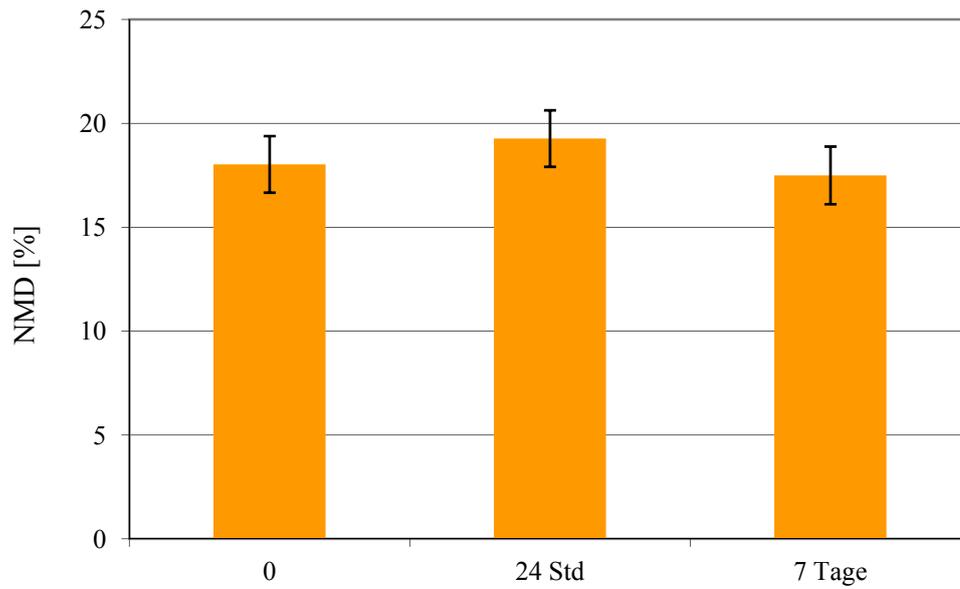
4.5.1 NMDmax zu allem Messzeitpunkten der Interventions- und Kontrollgruppe

Die endothelunabhängigen NMDmax-Werte des Gefäßdiameters zeigten weder zwischen den drei verschiedenen Zeitpunkten (t0h, t24h, t7d) noch zwischen den beiden verschiedenen Behandlungsarten (Tomatensupplementierung und Kontrolldiät) signifikante Unterschiede (Tabelle 4.7, Abb. 4.9 und 4.10).

Tabelle 4.7: Arterienradius und NMDmax zu allen Messzeitpunkten

	N	Interventionsgruppe			Kontrollgruppe		
		t0h	t24h	t7d	t0h	t24h	t7d
Ruhedurchmesser (mm)	19	3,29 \pm 0,03	3,25 \pm 0,03	3,28 \pm 0,03	3,35 \pm 0,03	3,29 \pm 0,03	3,29 \pm 0,03
Durchmesser_{max} (mm)	19	3,89 \pm 0,04	3,88 \pm 0,04	3,86 \pm 0,04	3,97 \pm 0,04	3,89 \pm 0,04	3,92 \pm 0,04
NMD_{max} (%)	19	18,02 \pm 5,94	19,27 \pm 5,93	17,50 \pm 6,05	18,54 \pm 5,45	18,15 \pm 4,48	18,91 \pm 5,79

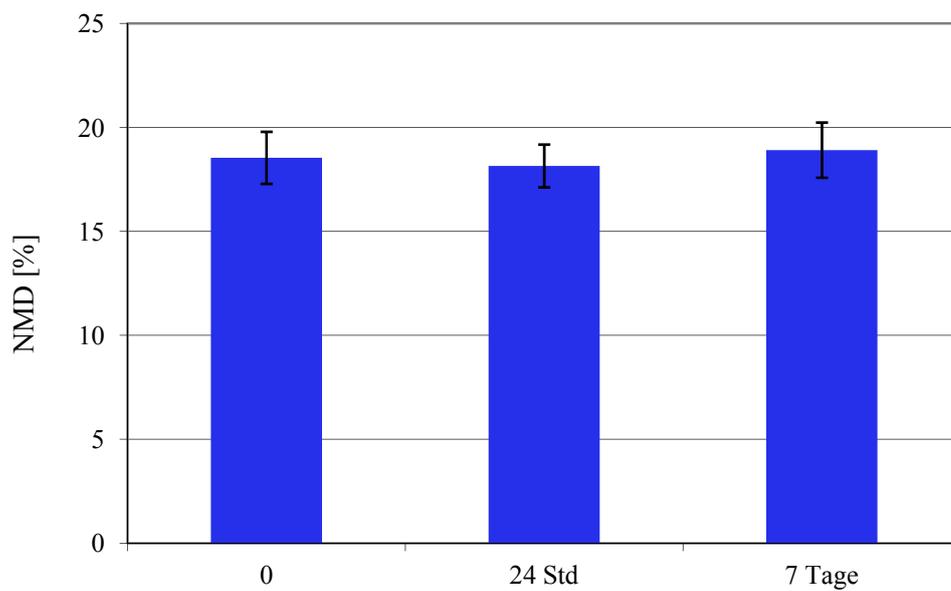
MW \pm SD



n=19, MW \pm SEM

alle gepaarten t-Tests ergaben keinen signifikanten Unterschied

Abb. 4.9: NMDmax zu allen Messzeitpunkten der Interventionsgruppe



n=19, MW \pm SEM

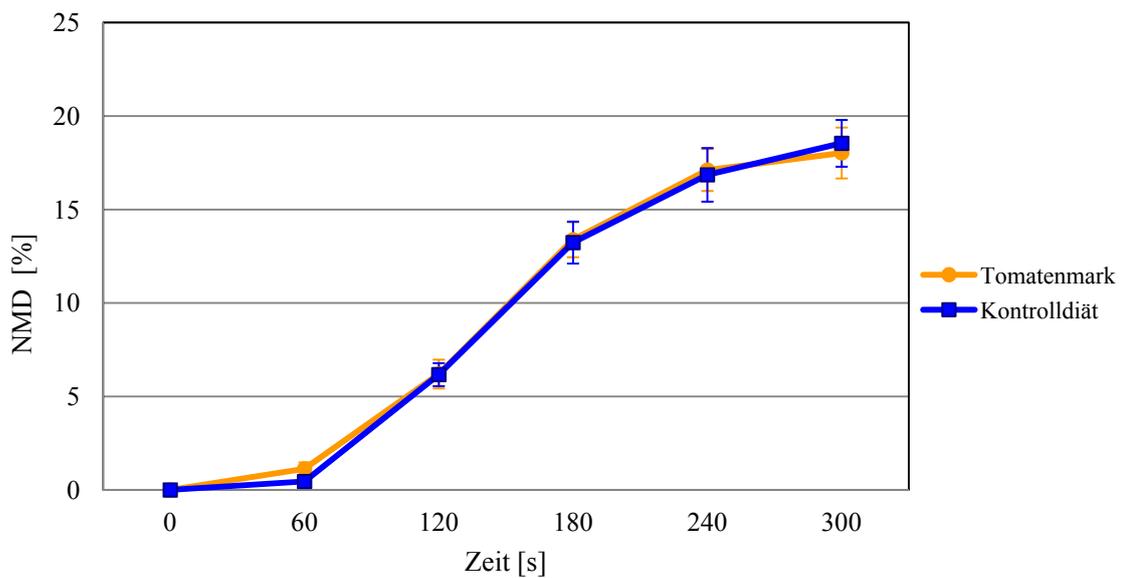
alle gepaarten t-Tests ergaben keinen signifikanten Unterschied

Abb. 4.10: NMDmax zu allen Messzeitpunkten der Kontrollgruppe

4.5.2 Zeitverlauf der NMD

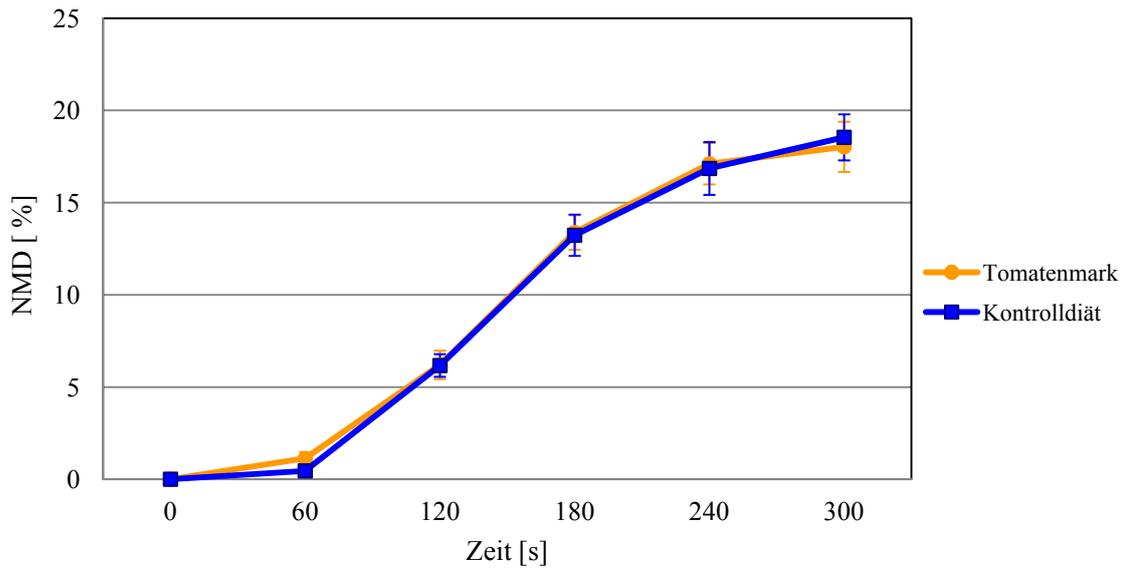
Zur Bestimmung der NMDmax wurde über einen Zeitraum von 5 Minuten alle 60 Sekunden der Diameter der *A. brachialis* gemessen.

Der Zeitverlauf zeigt hier, dass bei allen drei Untersuchungszeitpunkten (t0h, t24h, t7d) unabhängig von der jeweiligen Behandlung (Tomatenmarksupplementierung und Kontrolldiät) 5 Minuten nach Nitrogabe die höchste Vasodilatation (NMDmax) erreicht wurde (Abb. 4.11, Abb. 4.12 und Abb. 4.13).



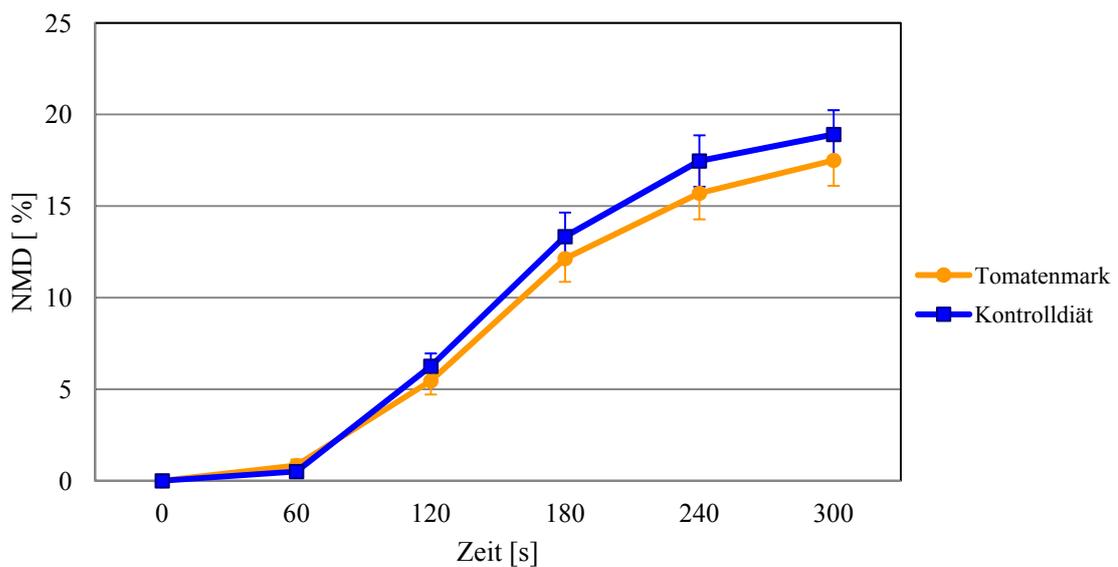
Tomatenmarkintervention vs. Kontrolldiät, n=19, MW \pm SEM

Abb. 4.11: NMD über 5 Minuten alle 60 Sekunden zu Beginn der Behandlung (t0h)



Tomatenmarkintervention vs. Kontrolldiät, n=19, MW \pm SEM

Abb. 4.12: NMD über 5 Minuten alle 60 Sekunden 24 Stunden nach Beginn der Behandlung (t24h)

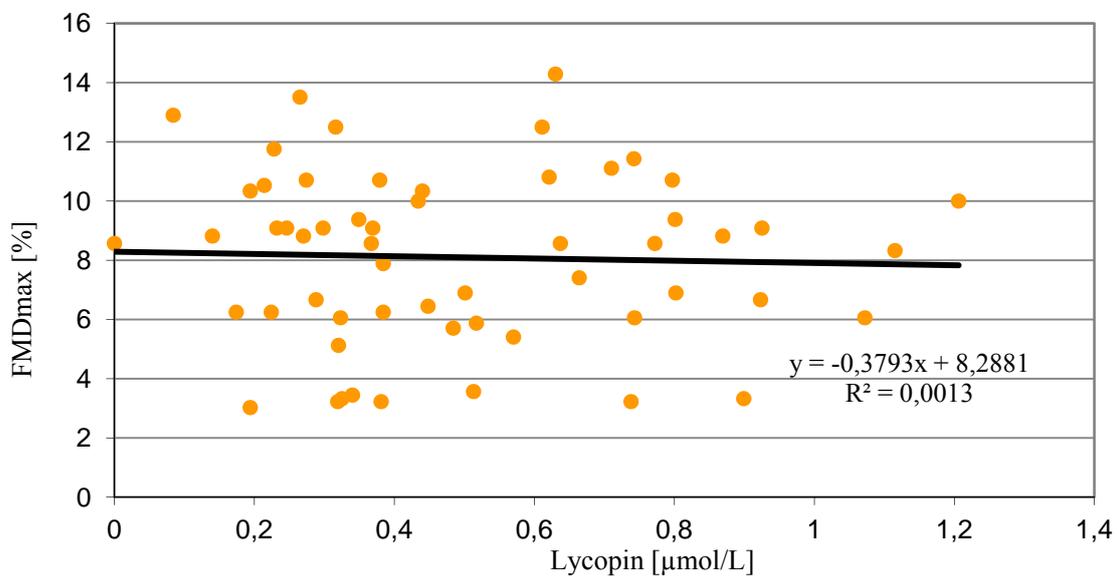


Tomatenmarkintervention vs. Kontrolldiät, n=19, MW \pm SEM

Abb. 4.13: NMD über 5 Minuten alle 60 Sekunden zum Abschluss der 1-wöchigen Behandlung nach 7 Tagen (t7d)

4.6 Korrelation der FMDmax mit dem Plasmalycopinspiegel

Es konnte insgesamt keine Korrelation zwischen dem Gesamt-Lycopinplasmagehalt der Tomatenmarkinterventionsgruppe und der FMDmax festgestellt werden. Der statistisch ermittelte Korrelationskoeffizient FMDmax (t7d) versus Lycopinplasmakonzentration (t7d, Tomateninterventionsgruppe) lag bei $R = 0,256$ und war damit nicht signifikant. Abb. 4.14 zeigt die Gesamt-Korrelation zwischen der FMDmax(%) und der Gesamt-Lycopinplasmakonzentration (Tomatenmarkintervention) zu allen drei Messzeitpunkten. Der Regressionskoeffizient, bzw. das Bestimmtheitsmaß der vorliegenden Regressionsgleichung ($y = -0,3793x + 8,2881$) lag hier bei $R^2 = 0,0013$ und zeigte keinerlei linearen Zusammenhang zwischen Lycopingehalt und FMDmax.



n=19

Abb. 4.14: Korrelation der FMDmax% (Interventionsgruppe) für alle Messzeitpunkte (t0h, t24h, t7d)

4.7 Auswertung weiterer Blutparameter

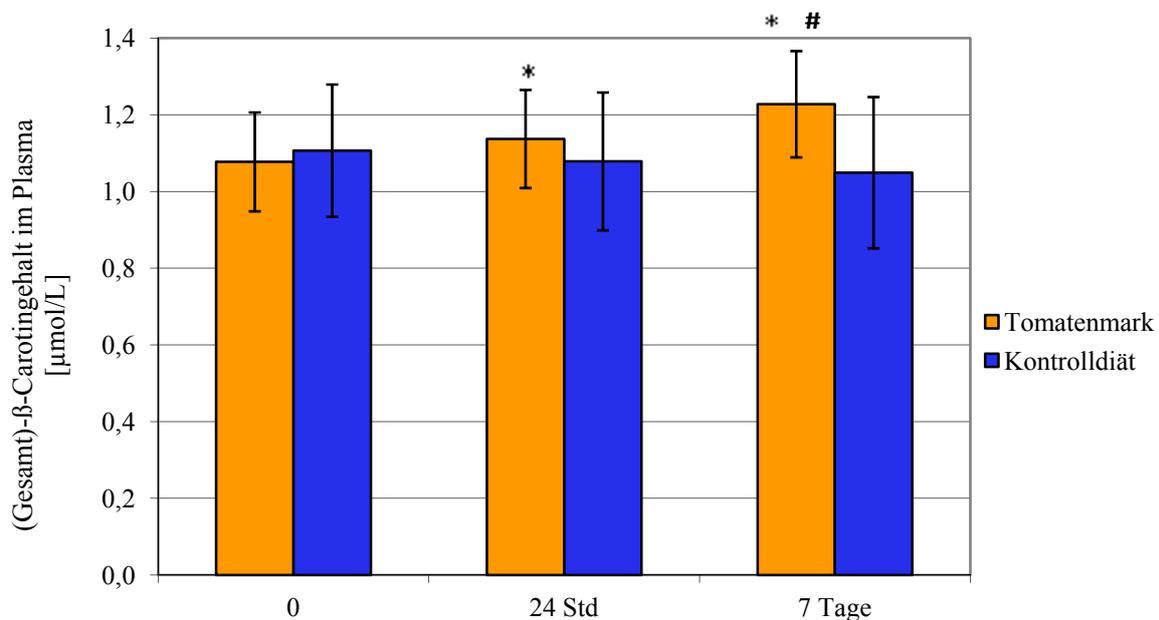
4.7.1 β -Carotin- und Luteinplasmaspiegel zu den 3 Messzeitpunkten

Die Plasmakonzentration von β -Carotins stieg 24 Stunden nach der ersten Tomatenmarkintervention um 5,55 % und nach 7 Tagen um 13,9 6% signifikant an ($p < 0.05$). Nach 7 Tagen zeigte sich ein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe ($p < 0.05$).

Tabelle 4.8: Gesamt- β -Carotinplasmaskonzentration im Plasma zu allen Messzeitpunkten der Interventions- und Kontrollgruppe (n =19)

	Zeitpunkt	Plasmakonzentration ($\mu\text{mol/l}$)
Interventionsgruppe	t0h	1,077 \pm 0,578
	t24h	1,137 \pm 0,573
	t7d	1,228 \pm 0,621
Kontrollgruppe	t0h	1,107 \pm 0,773
	t24h	1,078 \pm 0,805
	t7d	1,049 \pm 0,885

MW \pm SD



n=19, MW \pm SEM

* signifikanter Anstieg zum Ausgangswert ($p < 0,05$)

signifikanter Unterschied zur Kontrolldiät ($p < 0,05$)

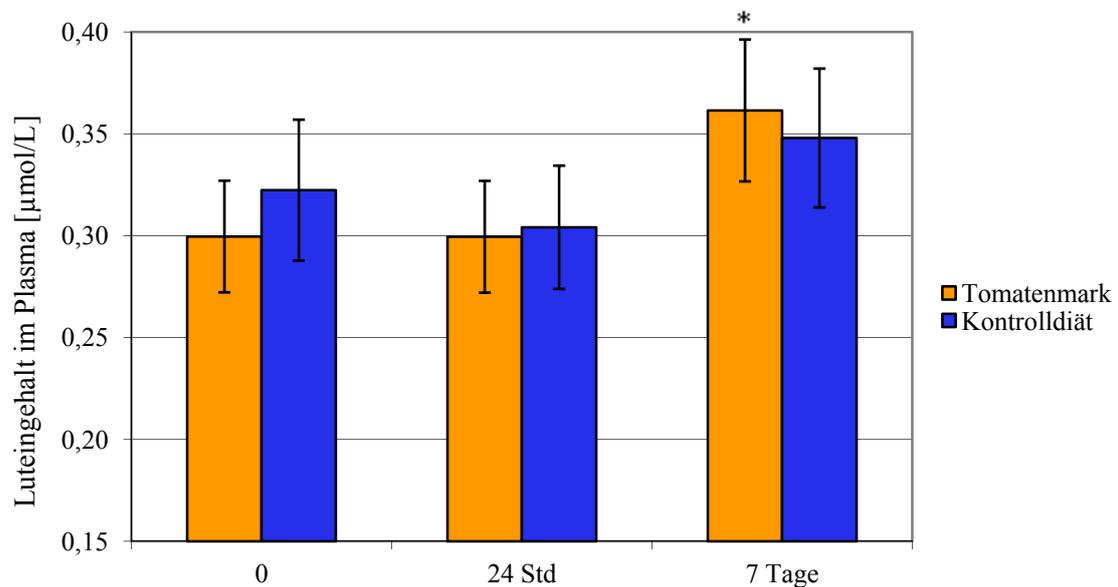
Abb. 4.15: (Gesamt-) β -Carotinplasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten

Im Probandenplasma der Tomatenmarkinterventionsgruppe war nach 24 Stunden noch kein Anstieg des Luteingehaltes zu detektieren, jedoch nach 7 Tagen signifikant um 20,66 % ($p < 0,05$) Nach 7 Tagen ist kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe erkennbar ($p = 0,49$).

Tabelle 4.9: Luteinplasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten der Interventions- und Kontrollgruppe (n = 19)

	Zeitpunkt	Plasmakonzentration ($\mu\text{mol/l}$)
Interventionsgruppe	t0h	0,300 \pm 0,122
	t24h	0,299 \pm 0,123
	t7d	0,361 \pm 0,156
Kontrollgruppe	t0h	0,322 \pm 0,155
	t24h	0,304 \pm 0,136
	t7d	0,348 \pm 0,153

MW \pm SD



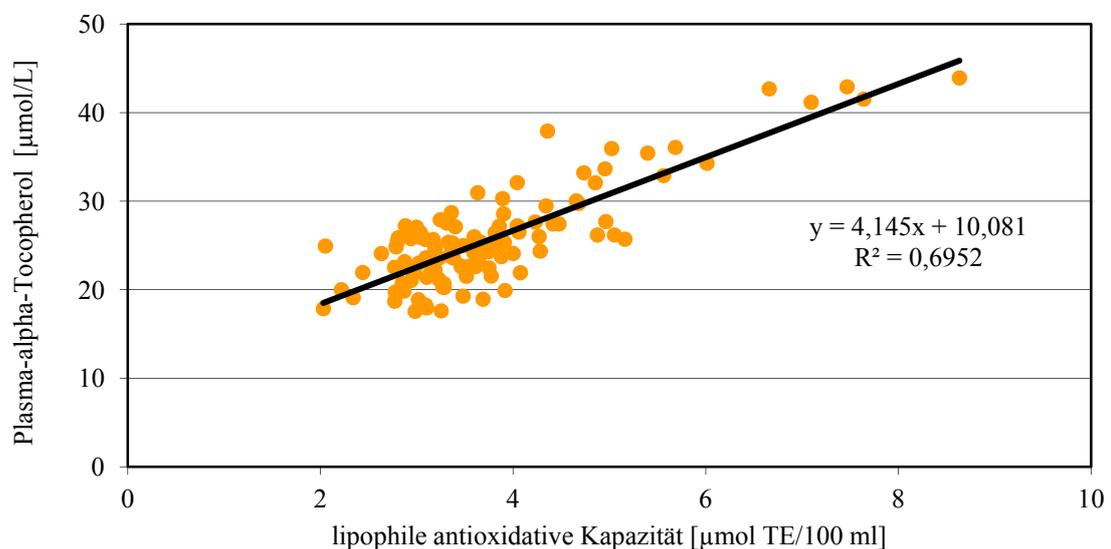
n = 19, MW \pm SEM

* signifikanter Unterschied zum Ausgangswert ($p < 0,05$)

Abb. 4.16: Luteinplasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten

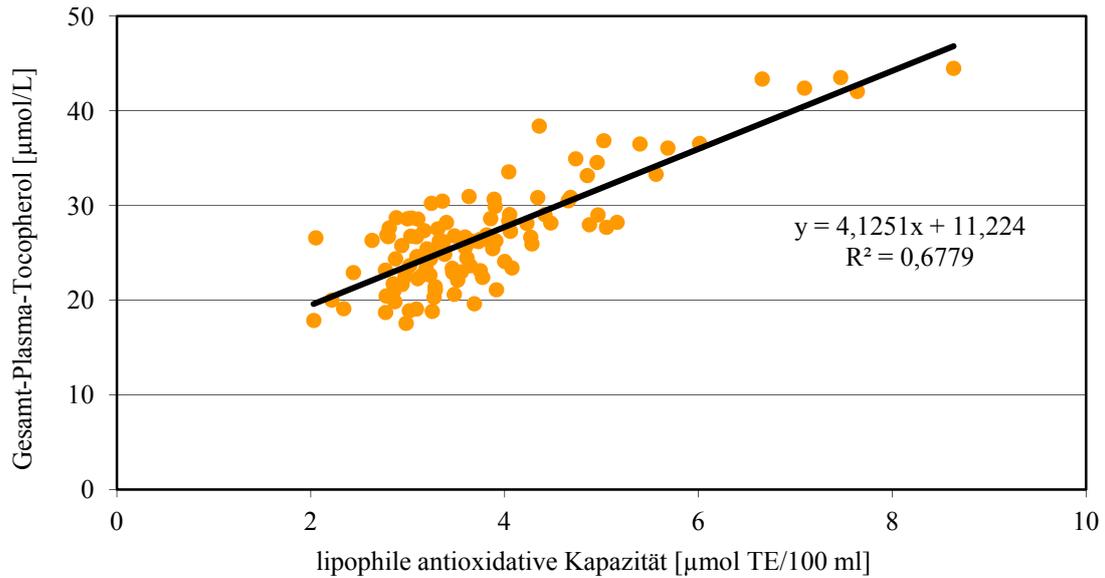
4.7.2 Korrelation mit der lipophilen antioxidativen Kapazität

Im Streudiagramm zwischen der lipophilen antioxidativen Kapazität (AK) und dem Gesamt- wie auch dem α -Tocopherol-Spiegel im Plasma (Tomatenmarksupplementierung und Kontrolldiät) konnte eine Korrelation zwischen den beiden Variablen gezeigt werden (Abb. 4.17 und 4.18). Der Regressionskoeffizient, bzw. das Bestimmtheitsmaß $R^2 = 0,6952$ der Regressionsgleichung $y = 4,145x + 10,081$, deutet einen Zusammenhang zwischen der antioxidativen Kapazität und dem Gesamt-Tocopherol an. Ähnlich verhält es sich zwischen der AK und dem α -Tocopherol-Spiegel im Plasma mit dem Regressionskoeffizienten $R^2 = 0,6779$ der Regressionsgleichung $y = 4,1251x + 11,224$, auch hier deutet sich ein linearer Zusammenhang zwischen den zwei Variablen an.



n = 19

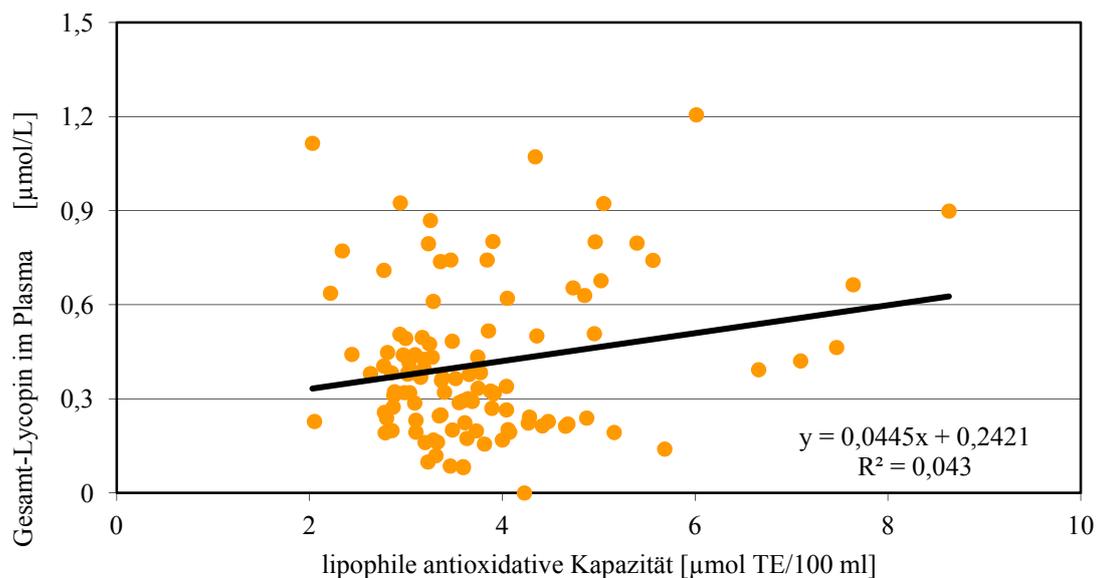
Abb. 4.17: Korrelation lipophile antioxidative Kapazität und Plasma-alpha-Tocopherol



n = 19

Abb. 4.18: Korrelation lipophile antioxidative Kapazität und Gesamt-Plasma-Tocopherol

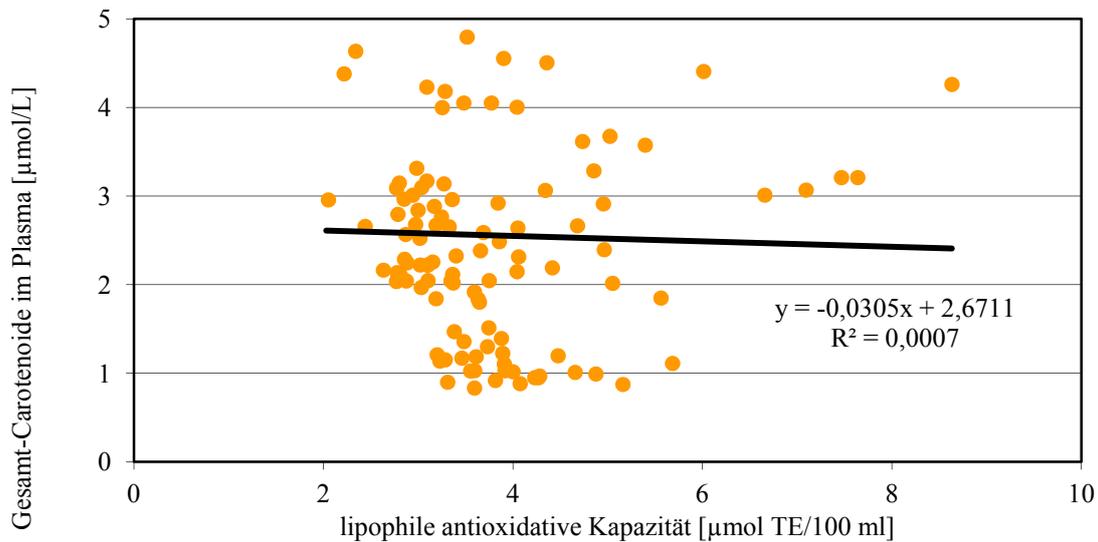
Zwischen dem Gesamt-Lycopin (Tomatenmarksupplementierung und Kontrolldiät) und der lipophilen antioxidativen Kapazität konnte keine eindeutige Korrelation nachgewiesen werden. So beträgt der Regressionskoeffizient der Regressionsgleichung $y = 0,0445x + 0,2421$ hier nur $R^2 = 0,043$ und weist damit keinen linearen Zusammenhang zwischen den beiden Variablen auf. (Abb. 4.19)



n = 19

Abb. 4.19: Korrelation lipophile antioxidative Kapazität und Gesamt-Lycopin

Ebenso verhielt es sich mit der Korrelation zwischen den Gesamt-Carotenoiden (Tomatenmarksupplementierung und Kontrolldiät) und der lipophilen antioxidativen Kapazität. Der Regressionskoeffizient $R^2 = 0,0007$ der Regressionsgleichung $y = -0,0305x + 2,6711$ wies hier einen Wert von fast 0 auf und damit keinerlei linearen Zusammenhang zwischen der lipophilen antioxidativen Kapazität und den Gesamt-Carotenoiden. (Abb. 4.20).



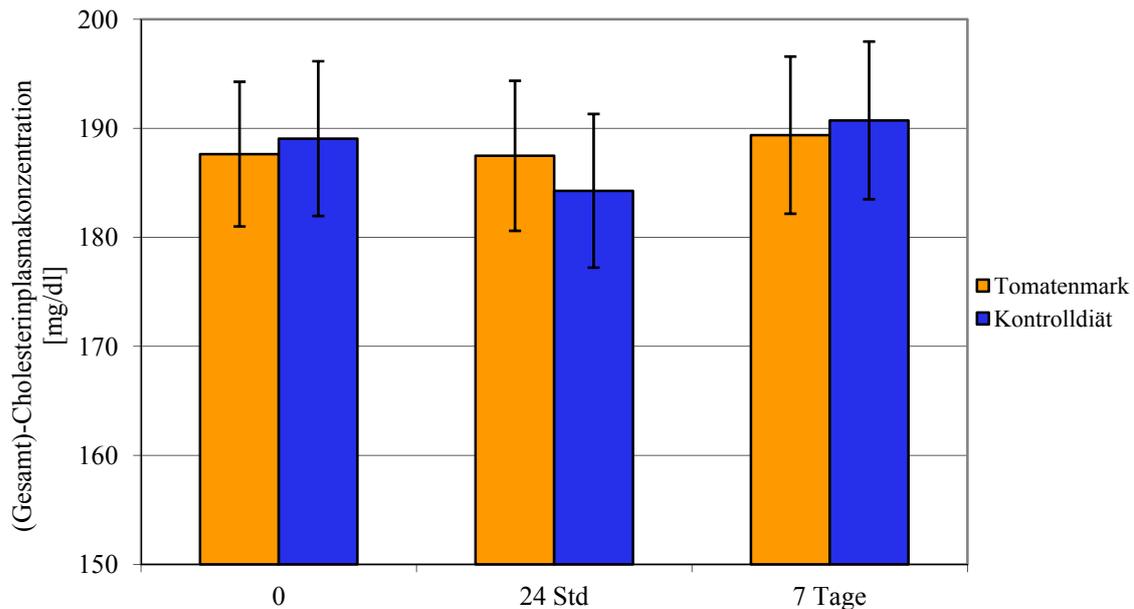
n = 19

Abb. 4.20: Korrelation lipophile antioxidative Kapazität und Gesamt-Carotenoide

4.7.3 Plasmaspiegel der Blutfette und des C-reaktiven Proteins zu allen drei Messzeitpunkten

Die Plasmaspiegelbestimmung der Blutfette und des CRPs erfolgte gleichzeitig mit der Lycopinplasmaspiegelbestimmung zu den drei Messzeitpunkten in der Tomatenmarkinterventions- und Kontrollgruppe (bei Studienbeginn nach einer 14-tägigen Lycopinkarenz (t0h), 24 Stunden nach der ersten Lycopineinnahme (t24h) und am Ende der 7-tägigen Lycopineinnahme bzw. Kontrolldiät (t7d)). Es konnte bei keinem der Parameter eine signifikante Änderung der Plasmaspiegel zwischen der Tomatenmarkinterventionsgruppe und der Kontrollgruppe oder zwischen den verschiedenen Messzeitpunkten festgestellt werden.

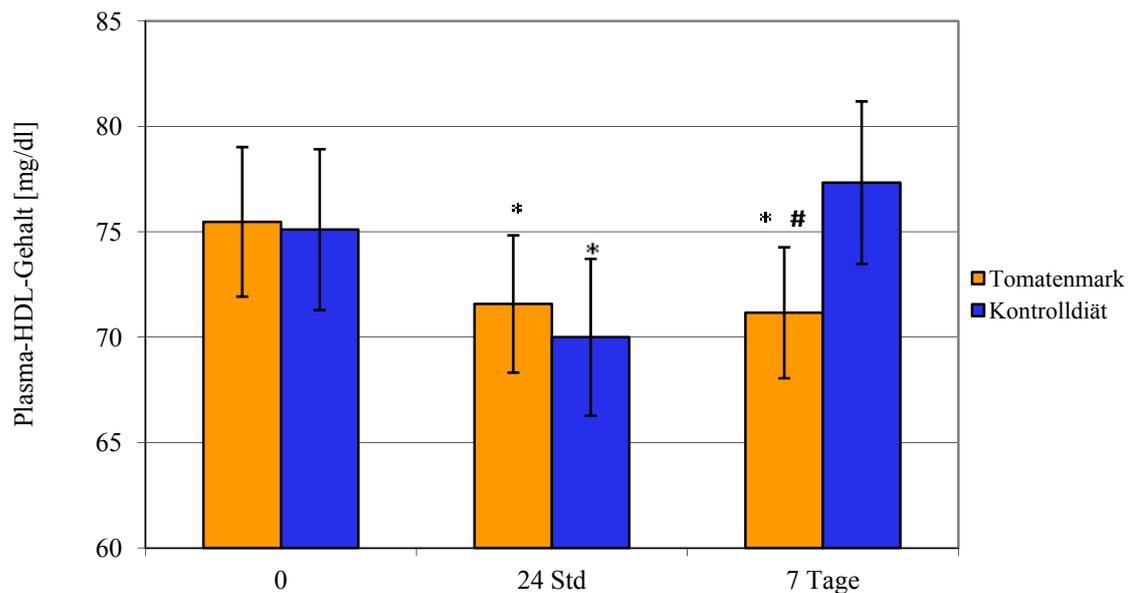
Der Plasmaspiegel der Blutfette und des CRP der Tomatenmarkinterventionsgruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt t0h, t24h und t7d sind in den unten stehenden Abbildungen 4.21 bis 4.25 dargestellt.



n=19, MW ± SEM

Abb. 4.21: (Gesamt-)Cholesterinplasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten

Abbildung 4.21 zeigt die Plasmaspiegel des Gesamt-Cholesterins der 19 Probandinnen zu allen 3 Messzeitpunkten der Tomatenmark- und Kontrollgruppe im Vergleich. Die Gesamt-Cholesterinplasmaspiegel der Tomatenmarkinterventionsgruppe schwankten zwischen $187,6 \pm 29,7$ mg/dl (t0), $187,5 \pm 30,8$ mg/dl (t24h) und $189,4 \pm 32,3$ (t7d). Die Plasmaspiegel des Gesamt-Cholesterins der Kontrollgruppe lagen vergleichbar zwischen $189,1 \pm 31,8$ mg/dl (t0), $184,3 \pm 31,6$ mg/dl (t24h) und $190,7 \pm 32,4$ mg/dl (t7d). Es konnte kein signifikanter Anstieg oder Abfall über die Zeit oder im Vergleich Intervention versus Kontrolle nachgewiesen werden. Es zeigte sich kein cholesterinsenkender Effekt des Lycopinplasmaspiegels.



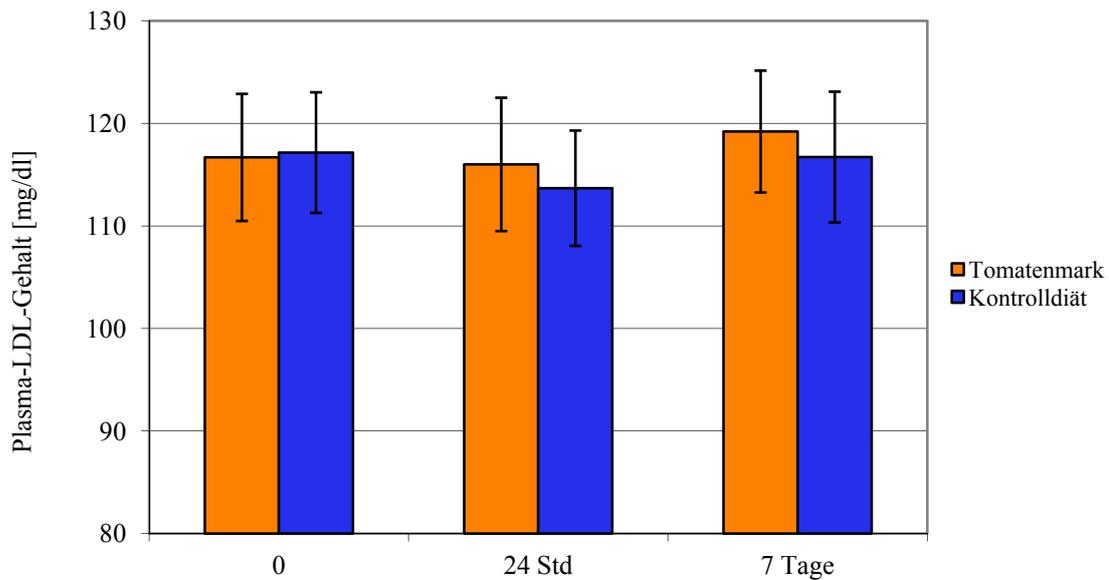
n = 19, MW ± SEM

* signifikanter Unterschied zum Ausgangswert ($p < 0,05$)

signifikanter Unterschied zur Kontrolldiät ($p < 0,05$)

Abb. 4.22: HDL-Plasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten

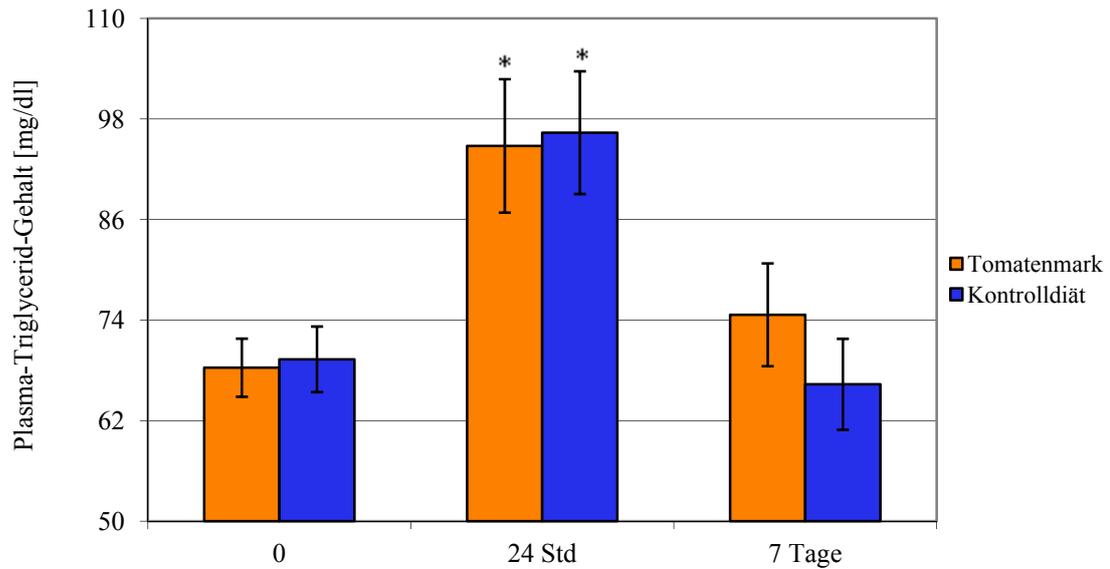
Abbildung 4.22 zeigt die Plasmaspiegel des HDL-Cholesterins der 19 Probandinnen über alle Messzeitpunkte der Tomatenmark- und Kontrollgruppe im Vergleich. Der HDL-Cholesterinspiegel bewegte sich zwischen $75,5 \pm 15,9$ mg/dl (t0), $71,6 \pm 14,6$ mg/dl (t24h) und $71,2 \pm 13,9$ mg/dl (t7d). Die Plasmaspiegel des HDL-Cholesterins der Kontrollgruppe schwankten zwischen $75,1 \pm 17,1$ mg/dl (t0), $70,0 \pm 16,7$ mg/dl (t24h) und $77,3 \pm 17,3$ mg/dl (t7d). Es zeigte sich in beiden Gruppen ein signifikanter Abfall nach 24 Stunden ($p < 0,05$). Nach 7 Tagen war der HDL-Plasmaspiegel in der Kontrollgruppe signifikant höher als in der Interventionsgruppe ($p < 0,05$).



n = 19, MW ± SEM

Abb. 4.23: LDL-Plasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten

In Abbildung 4.23 sind die Plasmaspiegel des LDL-Cholesterins der 19 Probandinnen im Vergleich Tomatenmarkintervention und Kontrollgruppe zu allen Messzeitpunkten zu sehen. Diese bewegten sich zwischen $116,7 \pm 27,8$ mg/dl (t0h), $116,0 \pm 29,1$ mg/dl (t24h) und $119,2 \pm 26,6$ mg/dl (t7d) innerhalb der Interventionsgruppe und zwischen $117,2 \pm 26,3$ mg/dl (t0h), $113,7 \pm 25,2$ mg/dl (t24h) und $116,7 \pm 28,6$ mg/dl (t7d) innerhalb der Kontrollgruppe und damit insgesamt innerhalb des normalen Bereiches. Auch hier konnte vergleichbar mit dem Gesamt-Cholesterin kein signifikanter Abfall über die verschiedenen Messzeitpunkte bzw. im Vergleich Tomatenmarkintervention versus Kontrolle gezeigt werden. Somit zeigte auch das LDL-Cholesterin keine Beeinflussung durch den Lycopinplasmaspiegel.

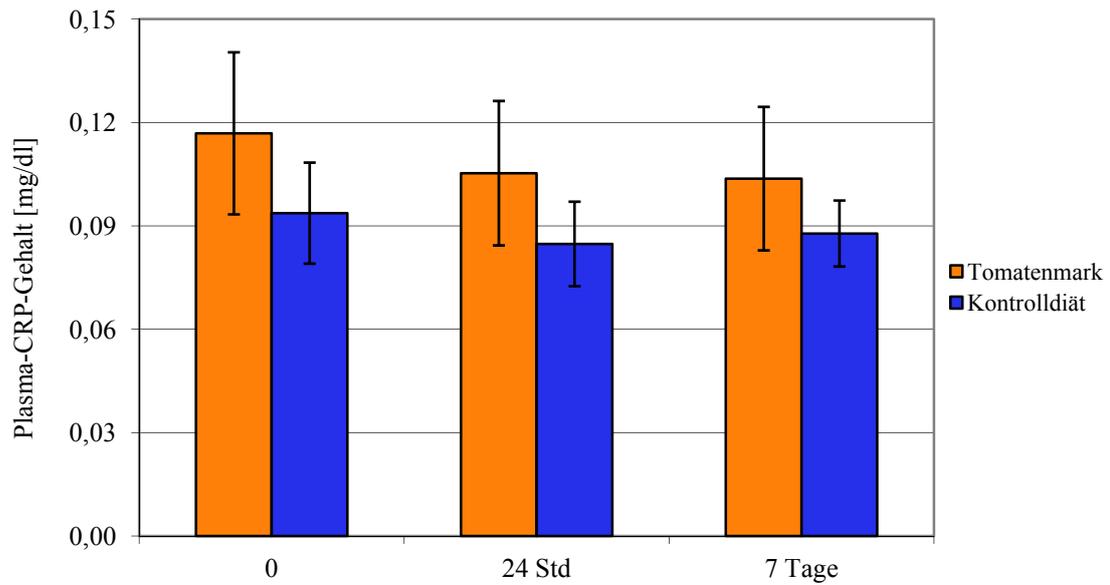


n = 19, MW ± SEM

* signifikanter Anstieg zum Ausgangswert ($p < 0,05$)

Abb. 4.24: Triglyceridplasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten

Abbildung 4.24 zeigt die Plasmaspiegel der Triglyceride aller 19 Probandinnen der Tomatenmarkinterventions- und der Kontrollgruppe über die 3 Messzeitpunkte. Hier zeigte sich unabhängig von der Tomatenmarkintervention, in beiden Gruppen ein signifikanter Anstieg ($p < 0,05$) der Triglyceridwerte im Probandenplasma nach 24 Stunden, um nach 7 Tagen wieder auf ungefähr den Ausgangswert abzusinken. So erhöhte sich der Plasmaspiegel in der Tomatenmarkgruppe von $68,3 \pm 15,5$ mg/dl (t0h) zu Beginn der Intervention auf $94,8 \pm 35,7$ mg/dl (t24h) nach einem Tag Tomatenmarksupplementation und sank zum Ende der einwöchigen Intervention wieder ab auf $74,6 \pm 27,5$ mg/dl (t7d). Vergleichbar zeigten sich die Triglyceridplasmaspiegel der Kontrollgruppe mit $69,3 \pm 17,5$ mg/dl (t0h) zu Beginn, $96,4 \pm 32,8$ mg/dl (t24h) nach einem Tag und $66,3 \pm 24,3$ mg/dl (t7d) nach 7 Tagen.



n = 19, MW ± SEM

Abb. 4.25: CRP-Plasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten

Wie in Abb. 4.25 zu sehen ist, bewegte sich der CRP-Plasmaspiegel der 19 Probandinnen zwischen $0,12 \pm 0,11$ mg/dl (t0h), $0,11 \pm 0,09$ mg/dl (t24h) und $0,10 \pm 0,09$ mg/dl (t7d) in der Tomatenmarkinterventionsgruppe und zwischen $0,09 \pm 0,07$ mg/dl (t0h), $0,08 \pm 0,06$ mg/dl (t24h) und $0,09 \pm 0,04$ mg/dl (t7d) in der Kontrollgruppe und damit insgesamt im Normalbereich. Er zeigte keine signifikanten Veränderungen in Bezug auf den veränderten Lycopinplasmaspiegel zwischen Interventions- und Kontrollgruppe.

5 Diskussion

Die vorliegende Studie untersucht einen möglichen Effekt von Lycopin bzw. Tomateninhaltsstoffen auf die vaskuläre Endothelfunktion.

Ein positiver Einfluss von Lycopin bzw. Tomateninhaltsstoffen auf die Endothelfunktion konnte in dieser Studie nicht bestätigt werden. Es konnte zwar gezeigt werden, dass eine einwöchige Intervention mit Tomatenmark zu signifikant höheren Lycopinplasmaspiegeln führt, jedoch zeigte sich trotz signifikantem Lycopinanstieg im Plasma keine signifikante Änderung in der Endothelfunktion.

Die vorliegende Studie war zum Durchführungszeitpunkt 2006 - 2008 eine der ersten Studien, die die Effekte von Lycopin auf die Endothelfunktion untersucht hat. Erst im weiteren Verlauf wurden mehrere Untersuchungen mit zum Teil widersprüchlichen Ergebnissen durchgeführt. Darauf wird nun im Folgenden eingegangen.

5.1 Studienaufbau

Bei der durchgeführten Studie handelt es sich um eine randomisierte, einfach verblindete Interventionsstudie mit Cross-over-Design. Vor Studienbeginn erfolgte die zufällige Aufteilung der Probandinnen nach einem festgelegten Randomisierungsschlüssel in zwei Gruppen. Die Gruppenzuteilung entschied über den Behandlungsbeginn mit oder ohne Tomatenmarkintervention. Hiermit sollte eine gleichmäßige Verteilung von bekannten und unbekanntem personengebundenen Einflussfaktoren auf beide Behandlungsgruppen erreicht werden, zur Vermeidung möglicher Bias. Weiterhin stellt die Randomisierung eine Voraussetzung für die durchgeführte Verblindung dar. Die Durchführung beider Messreihen (Intervention und Kontrolle) an jeder der 19 Probandinnen im Cross-over-Design ermöglichte eine Verringerung der Ergebnisverzerrung durch personenbezogene Einflussfaktoren, da diese, falls vorhanden, gleichmäßig sowohl auf die Ergebnisse der Interventions- wie auch der Kontrollgruppe verteilt waren.

Die Verblindung konnte in der vorliegenden Studie nur als einfache Verblindung in Bezug auf den Untersucher durchgeführt werden. Eine Verblindung von Seiten der Probandinnen war aufgrund der Zufuhr des Lycopin in Form von Tomatenmark nicht möglich. Die Messungen, wie auch die zeitversetzten und codierten Auswertungen konnten hingegen erfolgreich ohne Kenntnis über die Gruppenzugehörigkeit (Tomatenmarkintervention oder Kontrolle) der Probandinnen durchgeführt werden. Somit konnte eine objektive Auswertung

erfolgen, und eine Verfälschung durch vorgefasste Erwartungen von Seiten des Untersuchers, wie auch des Auswertenden, relativ sicher ausgeschlossen werden.

5.2 Probandenkollektiv

Die Studie wurde mit 19 gesunden postmenopausalen Frauen durchgeführt, wobei der Probenumfang ausgehend von insgesamt 20 Probanden als ausreichend ermittelt wurde, um mit einer Power von 80% eine Effektgröße von 0.67 (Mittelwert/Streuung) nachweisen zu können (Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie, Charité). Vergleichbar hohe Fallzahlen von 20 Probanden konnten bei vorangegangenen FMD-Studien signifikante Effekte nachweisen. [144]

Zur Herausarbeitung möglicher protektiver Effekte von Lycopin auf die Endothelfunktion wurden postmenopausale gesunde Frauen gewählt. Bei diesem Probandenkollektiv kann aufgrund des erniedrigten endogenen Östrogenspiegels von einer Endothelfunktionseinschränkung ausgegangen werden. [11, 12, 17, 18] Um die Compliance der Studienteilnehmerinnen bezüglich der vorgegebenen Verhaltensmaßnahmen (lycopinfreie Diät, 12-stündige Nahrungskarenz vor den Messterminen und tägliche Tomatenmarkeinnahme) besser überprüfen zu können, wurden die Probandinnen gebeten, ein Ernährungsprotokoll auf einem vorgegebenen Formblatt zu führen. Diese vorgegebenen Nahrungsprotokolle wurden ausnahmslos ausgefüllt, wobei die Richtigkeit der Angaben, wie allgemein die Compliance, nicht sicher kontrolliert werden konnte. Durch den Abfall bzw. Wiederanstieg des Lycopins und der anderen Carotenoide im Plasma hingegen kann von einer relativ guten Compliance der Frauen ausgegangen werden. Dies stellt einen weiteren wichtigen Punkt für die Zuverlässigkeit der Messergebnisse dar.

Aus der Befragung zu Beginn der Studie und den ausgefüllten Ernährungsprotokollen konnte bei fast allen Frauen ein starkes Gesundheitsbewußtsein ermittelt werden, mit dementsprechend gesunden Ernährungsgewohnheiten. Mehr als die Hälfte der Frauen war regelmäßig sportlich aktiv (Gymnastik, Fahrradfahren, Laufen). Man kann daher davon ausgehen, dass dieses Probandenkollektiv bereits zu Beginn der Studie über einen, am Alter gemessen, relativ guten Gefäßstatus verfügte. Es kann somit nicht ausgeschlossen werden, dass das untersuchte Probandenkollektiv möglicherweise, trotz der angenommenen Endothelfunktionseinschränkung aufgrund der postmenopausal erniedrigten Östrogenspiegel, insgesamt zu gesund war, um einen unmittelbaren Effekt des Lycopins auf die Endothelfunktion sichtbar machen zu können.

Darüber hinaus müssen mögliche geschlechtsspezifische Wirkungen von Lycopin mit in Erwägung gezogen werden. So zeigte eine große Querschnittsstudie von Rissanen et al. mit 520 Probanden (Männer und Frauen zwischen 45 und 69 Jahren) eine signifikante Beziehung zwischen niedrigem Lycopinplasmalevel und einem Anstieg der Intima-Media-Dicke der *A. carotis* um 18%. Interessanterweise bestand diese Signifikanz nur bei männlichen Probanden, [145] wohingegen in der Perth Carotid Ultrasound Disease Assessment Studie (CUDAS) von McQuillan et al. mit 558 Männern und 553 Frauen eine signifikante inverse Assoziation zwischen IMT und Lycopinplasmaspiegel nur bei weiblichen Studienteilnehmerinnen gefunden wurde. [146] Auch einige reine Fraueninterventionsstudien widersprechen der Annahme, Lycopin zeige im weiblichen Organismus keine oder eine verringerte Wirkung. Hierzu zählt u.a. die Interventionsstudie von Rao et al. mit 33 postmenopausalen Frauen. Nach einer 7-tägigen Lycopineinnahme zeigte die Gruppe mit der höheren Lycopinzufuhr und den daraus resultierenden höheren Lycopinplasmaspiegeln einen signifikanten Zusammenhang mit einer erniedrigten Proteinoxidation. [147] Ebenfalls zeigte eine 2003 veröffentlichte Studie bei 12 Frauen eine signifikante Korrelation zwischen hohen Lycopinleveln und verringerter LDL-Oxidation. [148] In einer weiteren Frauen-Interventionsstudie konnte eine signifikante TNF- α -Senkung nach 26-tägiger Lycopinsupplementation bei allen Probandinnen gezeigt werden. [95]

Obwohl die aktuelle Studienlage zwar tendenziell gegen eine geschlechtsspezifische Wirkung des Lycopins im menschlichen Körper spricht, kann diese aufgrund ungenügender Studiendaten nicht absolut ausgeschlossen werden. In Bezug auf die vorliegende Studie bedeutet dies, dass eine Beeinflussung der Ergebnisse aufgrund geschlechtsspezifischer Eigenschaften oder Wirkungsweisen des Lycopins nicht vollständig auszuschließen ist, da es sich um ein rein weibliches Probandenkollektiv handelt, und damit kein Geschlechtervergleich möglich ist.

Die durchschnittliche Lycopinplasmakonzentration unterschied sich in Studien bei Frauen und Männern gleicher Kohorten nicht. [149] Eine Studie mit 111 Teilnehmern, davon 54 Frauen, konnte keine signifikanten Geschlechterunterschiede bezüglich Plasmagehalt von Lycopin, Lutein und Zeaxanthin nachweisen, wohingegen α - und β -Carotin bei Frauen höhere Plasmawerte erreichten. [150]

Dies kann als Hinweis gedeutet werden, dass die Aufnahme und Verstoffwechslung von Lycopin im menschlichen Körper geschlechtsunabhängig erfolgt, und somit beide Geschlechter über eine vergleichbar hohe Bioverfügbarkeit von Lycopin verfügen.

5.3 Lycopinplasmaspiegel

5.3.1 Kinetik

In der vorliegenden Studie führte die tägliche Einnahme von 70 g Tomatenmark mit einem Lycopingehalt von 46,2 mg Lycopin über 7 Tage zu einem signifikanten Anstieg des Lycopinplasmaspiegels in der Interventionsgruppe um 149,8% im Vergleich zur Basismessung (t0h). Im Vergleich zur Kontrollgruppe lag der Anstieg des Lycopinplasmaspiegels nach 7 Tagen Intervention bei 145%, wohingegen der Lycopinplasmaspiegel der Kontrollgruppe nach 7 Tagen geringfügig um 18,9% abnahm.

Die Ergebnisse entsprechen der aktuellen Studienlage, nach der in den meisten humanen Interventionsstudien nach Aufnahme einer definierten Lycopinmenge über einen bestimmten Zeitraum ein zwei- bis dreifacher Anstieg des Lycopinplasma-, bzw. Serumspiegels beobachtet werden konnte. [57, 58, 148, 151-154]

Bislang ist noch nicht eindeutig geklärt, welche Mengen an Lycopin idealerweise täglich aufgenommen werden sollten, um eine gesundheitsfördernde Wirkung im Körper erzielen zu können. Verschiedene Interventionsstudien zur Kinetik zeigen, dass die tägliche Lycopin-Aufnahme durch den Konsum von Tomaten und Tomatenprodukten auf 20 bis 50 mg/Tag erhöht werden kann. Die Studie von Denniss et al. erzielte gar einen Anstieg bis zu 80 mg/Tag. [153, 154] Daher wurde das in dieser Studie täglich verabreichte Tomatenmark als ausreichende Menge für einen signifikanten Lycopinplasmaspiegelanstieg betrachtet.

Die Dauer der Intervention differiert in der Literatur von Einmalgaben bis maximal 12 Wochen Lycopin-Einnahme. Bisher wurden noch keine Interventionen länger als 3-4 Monate durchgeführt. Es konnte auf Basis von Literaturdaten gezeigt werden, dass eine Einmalgabe nicht ausreichend ist, um den maximal möglichen Lycopinplasmaspiegel zu erreichen. [57, 58, 148, 151, 152] Dies entspricht auch unseren Ergebnissen, nach denen die Lycopinplasmakonzentration der Interventionsgruppe 24 Stunden (t24h) nach der Ersteinnahme von 70 g Tomatenmark nur um ca. 40,5% höher lag im Vergleich zur Basismessung (t0h). Erklären lässt sich diese Tatsache dadurch, dass sich Lycopin als Carotenoid durch seine stark unpolaren, lipophilen Eigenschaften nur langsam im Körper anreichern lässt. Angesichts der erreichten Lycopinplasmaspiegel, kann die Interventionsdauer wie auch die verabreichte Lycopinmenge als ausreichend betrachtet werden. Im Vergleich zum Lycopinplasmaspiegel der Kontrollgruppe wurden Plasmakonzentrationen bis 1,2 µmol/L erreicht. Dieser deutliche signifikante Gesamt-

Lycopinanstieg im Plasma zeigte sich ausnahmslos bei allen 19 Probandinnen. Die Lycopinplasmakonzentrationen nach sieben Tagen Lycopineinnahme differierten dabei von 0,3 $\mu\text{mol/L}$ (bei einem Basiswert (t0h) von 0,08 $\mu\text{mol/L}$) bis 1,2 $\mu\text{mol/L}$ (bei einem Basiswert (t0h) von 0,63 $\mu\text{mol/L}$).

Plasmawerte von bis zu 1,2 $\mu\text{mol/L}$ entsprechen den aktuellen Forschungsergebnissen, nach denen Plasmakonzentration über 1,5 $\mu\text{mol/L}$ Lycopin auch bei übermäßiger Lycopinzufuhr über einen längeren Zeitraum nicht gesteigert werden konnten; ein möglicher Hinweis auf das Vorliegen eines Lycopinkonzentrationsplateaus im menschlichen Körper. [31]

Trotz des deutlich erhöhten Lycopinplasmaspiegels nach 7-tägiger Lycopineinnahme konnte keine Endothelfunktionsverbesserung nachgewiesen werden. Es bleibt zu überlegen, ob die Zeitspanne der Tomatenmarkintervention zu kurz war, um einen protektiven Effekt des Lycopin messbar machen zu können. Im Vergleich konnte in zwei anderen Interventionsstudien, einmal nach 14-tägiger und einmal nach 8-wöchiger Lycopinsupplementation durchaus eine signifikant verbesserte Endothelfunktion gemessen werden. [155, 156]

Die vor der Intervention durchgeführte 2-wöchige Lycopinauswaschphase führte zu einer gewünschten Senkung des Lycopinplasmaspiegels. So lag der Lycopinplasmaspiegel in beiden Gruppen (Tomatenmarkintervention und Kontrolle) nach der Auswaschphase bei einem Mittelwert von 0,29 $\mu\text{mol/L}$ (0,08 - 0,79 $\mu\text{mol/L}$; $\text{SD} \pm 0,004$). Dies entspricht auch den Ergebnissen anderer humaner Lycopininterventionsstudien, deren Plasmakonzentrationen vor Intervention um 0,08 $\mu\text{mol/L}$ [73] bis 0,8 $\mu\text{mol/L}$ lagen. [153]

Die aufgenommene Lycopinmenge wurde über die Plasmakonzentration bestimmt, wobei sich nur ca. 1 % des im menschlichen Körper gespeicherten Gesamt-Carotenoids (Lycopin eingeschlossen) im Blutplasma befindet. [157] Ein wesentlich größerer Anteil an gespeichertem Lycopin ist in verschiedenen Geweben des menschlichen Körpers zu finden, vor allem in Hoden, Leber, Fettgewebe, Prostata, Nieren und Ovarien. [30, 40-42] Ungeachtet dessen bietet sich für die Durchführung von Humaninterventionsstudien die Messung des Lycopinplasmaspiegels an, da sie im Gegensatz zu einer Gewebsbiopsie wesentlich weniger aufwändig und invasiv ist und ausreichende Rückschlüsse über die aufgenommene Lycopinmenge zulässt. [31] Da wir in unserer Studie den Einfluss von Lycopin auf die vaskuläre Endothelfunktion untersuchten, wurde der Plasmagehalt als maßgeblicher Einflussfaktor identifiziert.

Hierbei sollte jedoch beachtet werden, dass der Lycopinplasmaspiegel nur den momentanen Versorgungszustand, über einen relativ kurzen Zeitraum (Tage bis Wochen), wiedergibt. Informationen über eine langfristige Aufnahmemenge (Monate) könnten genauer durch Gewebsbiopsien gewonnen werden.

5.3.2 Bioverfügbarkeit

Um eine bestmögliche Bioverfügbarkeit des aufgenommenen Lycopins zu erreichen, wurde in dieser Studie Tomatenmark gewählt. Es hat sich in verschiedenen Studien gezeigt, dass das Lycopin in erhitzten oder mechanisch verarbeiteten Tomaten besser vom menschlichen Körper aufgenommen und verarbeitet werden kann und im Vergleich zu Lycopin aus frischen Tomaten eine bessere Bioverfügbarkeit aufweist. [57, 58] So haben Porrini et al. nachweisen können, dass nach einer vergleichbar hohen Lycopinmenge in frischen Tomaten und Tomatenmark, signifikant höhere Lycopinplasmaspiegel durch Tomatenmark erzielt werden können. [57] Eine mögliche Erklärung wäre, dass durch die Verarbeitung und Erhitzung die Zellstruktur der Chromoplasten aufgebrochen und Lycopin dadurch für den menschlichen Körper besser resorbierbar gemacht wird. [55] Gleichzeitig stabilisiert die Einbettung des Lycopins in der Tomatenmatrix wiederum das sehr hitze-, licht- und wärme-labile Lycopin. Auch zu beachten ist, dass in Tomatenprodukten neben Lycopin noch weitere Carotenoide enthalten sind. Wichtig ist hierbei vor allem β -Carotin, da verschiedene Studien gezeigt haben, dass Lycopin durch Wechselwirkung mit β -Carotin schneller und besser aufgenommen werden kann. [59-61] Aus diesen Gründen wurde sich in der vorliegenden Studie für die Zufuhr von Lycopin in Form von Tomatenmark entschieden, statt in reiner Form als synthetische Lycopinkapsel. Hätte in dieser Studie ein positiver Einfluss von Lycopin auf die Endothelfunktion nachgewiesen werden können, wäre zu überlegen gewesen, eine Folgestudie mit reinem Lycopin anzuschließen, um einen möglichen Einfluss der weiteren sich in der Tomate befindenden Carotenoide und Vitamine sicher ausschließen zu können.

Das in der Studie verwendete Tomatenmarkprodukt stammte aus einer einheitlichen Charge, um Varianzen im Lycopinanteil zu verhindern. Vor Beginn der Studie wurde eine Stichprobe dieser Tomatenmarkcharge vom Institut für Ernährungswissenschaften der Universität Jena auf seinen Lycopinanteil hin untersucht (siehe Tabelle 4.2). Zum Vergleich wurden noch weitere Tomatenmarkprodukte auf ihren Lycopingehalt hin getestet (siehe Tabelle 4.3). Da die Lycopinanteile in den verschiedenen untersuchten Tomatenmarkprodukten nicht wesentlich voneinander abwichen und auch verschiedene Chargen eines Produktes Differenzen in der Lycopinkonzentration aufwiesen, wurde ein Produkt der Firma Smartprice,

zweifach-konzentriert, mit einem Lycopinanteil von 46,2 mg verwendet, da von diesem Produkt eine genügend große Chargenmenge erworben werden konnte.

5.4 Auswirkung der Lycopinsupplementierung auf die Endothelfunktion

Da der Lycopinplasmaspiegel einen signifikanten Konzentrationsanstieg bei allen 19 Probandinnen zeigte, kann davon ausgegangen werden, dass der Grund für die ausgebliebene Endothelfunktionsverbesserung nicht an Art und Menge der Lycopinaufnahme zu finden ist.

Die vorliegende Studie war in den Jahren 2006-2008 eine der ersten Studien, die den Einfluss von Lycopin auf die Endothelfunktion untersuchte. Die aktuelle Studienlage ist nicht eindeutig. So deuten epidemiologische Studien auf eine inverse Korrelation zwischen Lycopineinnahme bzw. erhöhtem Lycopinplasmagehalt und der Inzidenz von Herz-Kreislaufkrankungen und bestimmten Krebserkrankungen hin. Dies lässt grundsätzlich auf einen kardioprotektiven Effekt von Lycopin schließen. Besonders hervorzuheben ist hier die epidemiologische multinationale EURAMIC-Studie von Kohlmeier et al. [81] In dieser Studie konnte bei Patienten nach akutem Herzinfarkt eine signifikant inverse Korrelation zwischen den erhöhten Lycopinfettgewebkonzentrationen (zwischen 0,21-0,36 mg Lycopin/g Fettgewebe) und dem Ereignis eines Herzinfarktes nachgewiesen werden. Bei keinem der anderen untersuchten Carotenoide konnte ein vergleichbares signifikantes Ergebnis gefunden werden. Dies ist interessant, betrachtet man die recht uneinheitlichen Ergebnisse epidemiologischer Studien, die die Beziehung zwischen Lycopin und der Inzidenz kardiovaskulärer Erkrankungen (Schlaganfall, Angina Pectoris, akuter Myokardinfarkt) untersuchten. Bei diesen Studien wurde entweder die Einnahmemenge lycopinhaltiger Nahrungsmittel oder der Plasma- bzw. Serumgehalt an Lycopin in Relation zur Erkrankungshäufigkeit gemessen. Die Dauer dieser Studien (Querschnitts- und Fall-Kontroll-Studien) erstreckte sich über mindestens 4,8 bis 14 Jahre. [158] Von den anderen epidemiologischen Studien zum kardioprotektiven Einfluss von Lycopin, gemessen an der Inzidenz der Herz-Kreislaufkrankungen, unterscheidet sich die oben beschriebene EURAMIC-Studie dadurch, dass in ihr der Lycopingehalt durch Biopsien (Feinnadelaspiration) im Fettgewebe statt wie üblich im Plasma oder Serum untersucht wurde. Da sich Lycopin als fettlöslicher Stoff besonders in fettreichem Gewebe anreichert, eignet sich dieser Wert vermutlich bei solch langfristigen Beobachtungen besser zur Überprüfung der Langzeitanreicherung von Lycopin als die Überprüfung der Konzentration im Blut. Da Arteriosklerose ein langwieriger Prozess ist, stellt sich die Frage, inwieweit

Plasmaspiegel Auskunft über die tatsächliche Lycopinversorgung über einen längerfristigen Zeitraum widerspiegeln.

Obwohl epidemiologische Untersuchungen keinen eindeutigen Einfluss von Lycopin auf Herz-Kreislaufkrankungen zeigen, ist dieser sehr wohl in Bezug auf den Effekt von Lycopin auf die kardiovaskulären Risikofaktoren Arteriosklerose und arterieller Hypertonus zu erkennen. Von insgesamt 15 Studien, bei denen es sich um 10 Querschnittsstudien, 4 Fall-Kontroll-Studien und eine prospektive Studie handelt, wiesen neun Studien einen signifikant positiven Effekt von Lycopin auf den Prozess der Arterioskleroseentstehung und den arteriellen Hypertonus auf. Untersucht wurde die Beziehung zwischen dem Lycopinplasmagehalt und dem Arteriosklerose-Risiko anhand von Messungen der Intima-media-Dicke der *A. carotis* mittels hochauflösenden Ultraschalls, einem anerkannten Marker zur Beurteilung des Arteriosklerose-Risikos. [158]

So fanden Klipstein-Grobusch et al. in der Rotterdam-Studie, einer Fall-Kontroll-Studie mit 108 Probanden mit bekannter Arteriosklerose, eine inverse Korrelation zwischen der Lycopinkonzentration im Serum und der IMT, vor allem bei ehemaligen Rauchern. [71]

Auch Rissanen et al., McQuillan et al. und Riccioni et al. kamen in ihren Querschnitts- und Fall-Kontrollstudien zu ähnlichen Ergebnissen. [145, 146, 159, 161-163]

Gianetti et al. konnten in ihrer Fall-Kontroll-Studie bei arteriellem Hypertonus und pAVK eine signifikant inverse Korrelation zwischen erniedrigtem Lycopinlevel und erhöhter IMT aufzeigen. [160]

Kim et al. fanden in ihrer Querschnittsstudie eine signifikant negative Korrelation zwischen Lycopinplasmaspiegel und baPWV (brachial-ankle pulse wave velocity) bei 264 gesunden weiblichen Probanden. [155]

Van Herpen-Broekmans et al. dagegen konnten keine vergleichbare Korrelation zwischen Lycopinplasmakonzentration und Endothelfunktion, gemessen mittels FMD zeigen. Eine signifikant inverse Korrelation zwischen Lycopin und sICAM-1, einem Zellmarker für die Endothelfunktion, konnte hingegen nachgewiesen werden. [94]

Die insgesamt gesehen positiven Ergebnisse dieser Studien stützen die Vermutung, dass Lycopin in einer bestimmten Konzentration im menschlichen Blut einen protektiven Effekt auf die frühe, noch reversible Phase der Arteriosklerosebildung hat.

Eine Folgestudie unserer Arbeitsgruppe führte ein ähnliches Studienprotokoll (14 Tage Lycopinsupplementierung) bei einem Probandenkollektiv aus jungen, rauchenden Männern durch. Auch diese Studie zeigte keine signifikante Korrelation zwischen erhöhtem Lycopinplasmaspiegel und der mittels FMD gemessenen Endothelfunktion [164]. Dagegen zeigten Xaplanteris und Stefanadis 2012 in einer Studie mit 19 Probanden (8 Männern und 11 Frauen im Alter von im Mittel 39 ± 13 Jahre) nach einer 14-tägigen Tomatenmarksupplementation eine signifikante positive Korrelation zwischen erhöhten Lycopinplasmaspiegeln und mittels FMD gemessener Endothelfunktion. [156] Dies wirft die Frage auf, warum sich in den beiden Studien unserer Arbeitsgruppe kein positives Ergebnis zeigen ließ. Ein Unterschied im Studiendesign ist die längere Interventionsdauer von 14 Tagen bei Xaplanteris versus 7 Tage in unserer Studie, die Lycopinplasmaspiegel in unserer Studie lassen jedoch von einer ausreichend langen Einnahmedauer ausgehen. Geht man von einer Lycopinwirkung erst bei einer längeren Interventionsdauer aus, würden die negativen Ergebnisse der Folgestudie unserer Arbeitsgruppe gegen diese These sprechen.

Auch Kim et al. konnten in ihrer an 126 gesunden männlichen Probanden durchgeführten Lycopininterventionsstudie (Lycopinintervention von 15 mg/Tag an 37 Probanden) über einen Zeitraum von 8 Wochen eine signifikante Verbesserung der Endothelfunktion nachweisen. Gemessen wurde die Endothelfunktion mittels peripherer arterieller Tonometrie bei reaktiver Hyperämie, der sogenannten RH-PAT (reactive hyperemia pulse amplitude tonometry). Zusätzlich zeigte sich ein signifikanter Anstieg der SOD (Superoxide dismutase)-Aktivität und eine Verringerung der DNA-Schäden in den Lymphozyten in der Gruppe mit der höchsten Lycopinsupplementierung (15 mg/d). Diese Gruppe zeigte auch einen 23% höheren RH-PAT-Index, im Sinne einer Endothelfunktionsverbesserung, als die Gruppe mit der geringeren Lycopinsupplementierung (6 mg/d). Weiter konnte bei der Gruppe mit der höchsten Lycopineinnahmemenge ein signifikanter Abfall von CRP, arteriellem Blutdruck und den vaskulären Zelladhäsionsmolekülen sICAM-1 und VCAM-1 gezeigt werden. Besonders deutlich fiel das Ergebnis bei den Probanden mit initial beeinträchtigter Endothelfunktion aus. [165]

In weiteren bisher durchgeführten Interventionsstudien, reichen die Lycopininterventionen von mindestens einer Woche bis maximal 12 Wochen. Die Anzahl der Probanden in den verschiedenen Studien lag zwischen vier und 175 Probanden, bei fast der Hälfte der Studien lag die Probandenanzahl zwischen 12 und 27 Probanden. Nicht nur die Anzahl der Probanden und der Zeitraum der Intervention weisen eine große Varianz auf, auch die Menge des täglich

verabreichten Lycopins differiert stark von 4 mg/Tag bis 80 mg/Tag. Laut dem Review von Mordente et al. ist beim Vergleich geringe Supplementationsmenge und kurze Supplementationsdauer versus höhere Supplementationsmenge und längere Supplementationsdauer für die Signifikanz der Ergebnisse in diesen Studien kein Trend erkennbar. [158]

Dies widerspricht der Studie von Kim et al. [165], in der bei der Gruppe mit der höheren Lycopinzufuhr auch eine verbesserte Endothelfunktion nachgewiesen werden konnte. Geht man davon aus, dass diese Studienergebnisse die protektive Wirkung des Lycopin auf den Gefäßstatus bzw. die Arteriosklerose, bei einer genügend langen Interventionsdauer, bestätigen, bleibt die Frage nach dem genauen Angriffspunkt und Wirkmechanismus des Lycopin offen. Hier bedarf es weiterer Studien. [173]

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Lycopinsupplementierung in Form von Tomatenmark in der vorliegenden Studie keine Hinweise auf eine mögliche protektive Wirkung auf die vaskuläre Endothelfunktion ergeben hat. Dies steht im Gegensatz zu Ergebnissen späterer Interventionsstudien, die durchaus positive Effekte auf die Endothelfunktion nachweisen konnten. Die Ursache für diese unterschiedlichen Studienergebnisse ist unklar. Eine mögliche Rolle könnten Interventionsdauer, Auswahl des Probandenkollektivs oder noch unbekannte Faktoren spielen.

5.5 Auswirkung der Lycopinsupplementierung auf weitere Laborparameter

In der vorliegenden Studie wurden bei allen sechs Messterminen neben der Lycopinplasmakonzentration weitere Carotenoide, Lipidparameter und CRP bestimmt.

Da sich keine Endothelfunktionsveränderung zeigte, konnte auch kein kausaler Zusammenhang einzelner dieser erhobenen Parameter zur Endothelfunktion nachgewiesen werden.

Neben der signifikanten Erhöhung des Gesamt-Lycopins zeigte sich auch eine anteilige Erhöhung seiner verschiedenen Isomere ((all-E)-Lycopin, 5Z-Lycopin, 13+15Z-Lycopin) unter der 7-tägigen Tomatenmarkzufuhr. Die Tabelle 4.5 veranschaulicht das ausgewogene Verhältnis zwischen den Z-Lycopinisomeren (5Z) und (13Z+15Z) und dem (all-E)-Lycopinisomer. Dies entspricht den Ergebnissen von Stahl und Sies, wie auch Fröhlich und Böhm, die in ihren Forschungen ein Verhältnis von ca. 50% (Z)-Lycopin und 50% (all-E)-Lycopin im Humanplasma fanden. [30, 31]

Auch β -Carotin und Lutein zeigten eine signifikante Erhöhung unter der Tomatenmarkzufuhr. So stieg die Plasmakonzentration von β -Carotins 24 Stunden nach der ersten Tomatenmarkintervention um 5,55 % und nach 7 Tagen um 13,96 % (Tabelle 4.8, Abb. 4.15), der Luteingehalt stieg nach 7 Tagen Tomatenmarkintervention um 20,66 % und damit deutlich höher im Vergleich zur Plasmakonzentration in der Kontrollgruppe, welche nur um 7,93 % anstieg (Tabelle 4.9 und Abb. 4.16). Es kann somit festgestellt werden, dass auch die Carotenoide β -Carotin und Lutein, zumindest in den in dieser Studie erreichten Plasmakonzentrationen, keinen Einfluss auf die Endothelfunktion zeigen konnten.

Weiterhin wurde α -Tocopherol (Vitamin E) zur Einschätzung der antioxidativen Kapazität bestimmt. Es zeigte sich interessanterweise nur bei α -Tocopherol eine signifikante Korrelation zur lipophilen antioxidativen Kapazität, wohingegen sowohl für Lycopin als auch für β -Carotin keine solche Korrelation gezeigt werden konnte. Die mehrfach nachgewiesenen antioxidativen Eigenschaften von Lycopins konnten somit in der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden. Dies entspricht dem aktuellen Forschungsstand. Längere Zeit wurde angenommen, der kardiovaskulär präventive Einfluss des Lycopins käme vorrangig von seinen antioxidativen Fähigkeiten. Nach neueren Erkenntnissen ist deren Bedeutung im menschlichen Körper wahrscheinlich eher gering, da Lycopinspiegel an den Entstehungsorten der ROS und freien Radikalen zu niedrig scheinen, um eine relevante antioxidative Wirkung ausüben zu können. [84]

Um den Einfluss von Lycopin auf das Lipidprofil zu untersuchen, wurden Gesamt-Cholesterin, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin und Triglyceride bestimmt. Es konnte keine Veränderung des Plasmaspiegels von Gesamt- und LDL-Cholesterin nachgewiesen werden, weder im Zeitverlauf eines Messzyklus, noch im Vergleich Tomatenmarkintervention und Kontrolldiät (Abb. 5.21, 5.22, 5.23). Die Plasmakonzentration der Triglyceride stieg nach 24 Stunden bei beiden Gruppen (Tomatenmarkintervention und Kontrolldiät) geringfügig an, um dann im einwöchigen Verlauf wieder auf eine dem Anfangswert entsprechende Plasmakonzentration abzufallen (Abb. 4.24). Die Ursache für diesen zwischenzeitlichen Plasmaanstieg der Triglyceride konnte in der Auswertung nicht geklärt werden. Es konnte keine signifikante Korrelation zwischen Lycopinplasma Spiegel und Lipidstatus nachgewiesen werden. Ein positiver Einfluss, der durch die Tomatenmarksupplementierung erhöhten Lycopinplasmakonzentration auf die Blutfette im Sinne eines cholesterinsenkenden, bzw. cholesterinmodulierenden Effektes, konnte in der vorliegenden Studie somit nicht gezeigt werden. Das Ergebnis reiht sich in die

widersprüchliche Studienlage ein, in der sowohl signifikante Korrelationen mit Lycopinplasmaanstiegen als auch negative Ergebnisse beschrieben werden. Untersucht wurde vor allem der Einfluss des Lycopins auf den Fettmetabolismus und auf die mögliche Fähigkeit des Lycopins, die LDL-Oxidation zu verringern. Es handelt sich dabei fast ausschließlich um interventionelle Human- oder Tierstudien. Eine aktuelle Studie von 2015 mit 25 jungen, gesunden Frauen zwischen 20 und 30 Jahren kam zum Beispiel zu dem Ergebnis, dass nach 2-monatiger, täglicher Einnahme von 280 ml Tomatensaft eine signifikante Reduktion der Körperfettparameter, des Serum-Cholesteringehaltes und der inflammatorischen Adipokingehalte im Serum nachzuweisen waren. [174] Jedoch wurde in dieser Studie, wie bei fast allen weiteren klinischen Studien zum Einfluss von Lycopin auf den Fettmetabolismus, anstelle reinen Lycopins Tomatenprodukte zugeführt und der Effekt von β -Carotins nicht berücksichtigt. Es ist also nicht eindeutig geklärt, ob die antioxidative Wirkung nicht zu einem größeren Anteil vom β -Carotin beeinflusst wird. Dugas et al. haben den Lycopin- und β -Carotinanstieg und deren Einfluss auf die LDL-Oxidation *in vitro* und *in vivo* verglichen. [166] Im Ergebnis zeigte sich ein zwei- bis dreifacher Lycopinanstieg *in vivo* mit fehlendem Effekt auf die LDL-Oxidationsinhibierung im Vergleich zu einem drei- bis sechsfachen β -Carotinanstieg (*in vitro* bis 12-fach) mit einer signifikanten LDL-Oxidationsinhibierung. Fuhrmann et al. hingegen konnten *in vitro* sowohl durch β -Carotin wie auch durch Lycopin eine Erhöhung der LDL-Rezeptoraktivität in Makrophagen nachweisen und dementsprechend auch eine signifikante 14%ige Reduktion der Plasma-LDL-Cholesterinkonzentration *in vivo* nach dreimonatiger Lycopinzufuhr von 60 mg/Tag. [85] In einer Fall-Kontroll-Studie kam eine unterschiedliche Beeinflussung der LDL-Oxidation bei den Geschlechtern heraus. Bei Frauen zeigten sich Lycopin und Lutein als die stärksten Determinanten der Serum-LDL-Spiegel, wohingegen sich bei den Männern β -Carotin als stärkster Einflussfaktor zeigte. [38] Ried und Fakler fanden bei ihrer Metaanalyse heraus, dass es zu einem signifikanten cholesterinsenkenden Effekt nur bei Lycopinzufuhr ≥ 25 mg/Tag kommt. [167] Dem stehen unsere Studienergebnisse mit einer täglichen Einnahmemenge von ca. 46 mg Lycopin ohne signifikante Beeinflussung des Lipidprofils gegenüber. Insgesamt sind die Studienergebnisse schwer miteinander zu vergleichen, aufgrund von Unterschieden in Fallzahl, Studienaufbau und Interventionsdauer.

Der CRP-Plasmaspiegel zeigte keine Korrelation mit dem Lycopinplasmaanstieg der Tomatenmarkinterventionsgruppe.

5.6 Endothelfunktionsmessung

Da es in dieser Studie zu keiner Endothelfunktionsverbesserung kam, obwohl die Lycopinplasmakonzentrationen nach der 7-tägigen Lycopinzufuhr signifikant erhöht waren, muss ebenfalls die verwendete Messmethode kritisch betrachtet werden. Zur Überprüfung des angenommenen Effektes von Lycopin auf das vaskuläre Endothel wurde in dieser Studie das nichtinvasive Verfahren der FMD gewählt. Dieses Messverfahren erfasst die NO-induzierte Vasodilatation der *A. brachialis* nach reaktiver Hyperämie. Sie stellt somit indirekt ein Maß für die lokale NO-Produktion des Endothels, und damit für dessen Funktionsfähigkeit dar. [116, 117]

Die Methode ist ein nichtinvasives Messverfahren zur Endothelfunktionsmessung und macht somit eine für die Studienteilnehmerinnen risikofreie und damit beliebig oft wiederholbare Untersuchung möglich. Weiterhin stellt sie, im Vergleich zu invasiven Verfahren wie dem Acetylcholinprovokationstest [110] oder auch der koronaren Flussmessung [123], eine relativ einfache und kostengünstige Untersuchung dar. Die FMD weist, im Vergleich zu den anderen nichtinvasiven Verfahren wie der Salbutamol-vermittelten Endothelfunktionsmessung mittels Pulswellenanalyse (PWA), der Pulskonturanalyse (PKA), der flussvermittelten Magnetresonanztomographie, der lasergesteuerten Dopplerflussmessung und der flussvermittelten Pulswellen-Amplitudenmessung (PAT), die geringste Messvarianz auf. [119] Schon in sehr frühen Stadien der Arteriosklerosebildung werden Veränderungen der FMD detektiert. [121, 168] Anderson et al. wiesen in einer Studie mit 50 Probanden eine signifikante positive Korrelation zwischen koronarer Vasodilatation (mittels invasivem koronarem Acetylcholinprovokationstest gemessen) und peripherer Vasodilatation (mittels FMD) nach. [131] Schon 2003 konnten Gokce et al. in einer prospektiven Studie bei 199 Probanden die FMD als unabhängigen Faktor zur Abschätzung zukünftiger kardiovaskulärer Ereignisse aufzeigen. [133] Ergänzend wiesen Yeboah et al. in ihrer in die MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis) eingebetteten Fall-Kontroll-Studie mit 3026 Probanden diesen prädiktiven Zusammenhang zwischen FMD und zukünftigen kardiovaskulären Ereignissen, auch bei Probanden ohne initial arteriosklerotisch veränderte Gefäße, nach. [132]

Aus den genannten Gründen stellte diese Untersuchung zum Zeitpunkt der Studiendurchführung die beste Methode zur Überprüfung eines direkten Einflusses von Lycopin auf die Endothelfunktion dar.

Neben diesen Vorteilen, müssen jedoch auch die Schwierigkeiten und Nachteile dieser Messmethode diskutiert werden.

Ein großer Nachteil der FMD-Methode ist das Fehlen von festgelegten Referenzwerten. So können die erhobenen Daten aufgrund methodischer Unterschiede zwischen verschiedenen Arbeitsgruppen nur sehr eingeschränkt miteinander verglichen werden. [129]

Um diese große Variabilität der Ergebnisse zwischen den verschiedenen Studien zu verringern, wurden Richtlinien verfasst. Die FMD-Messungen in dieser Studie erfolgten in Anlehnung an die von Corretti et al. 2002 publizierten Richtlinien zur FMD-Messung an der *A. brachialis* nach einem standardisierten Protokoll. [126] Die 2010 erneuerten aktuellen Richtlinien von Tijssen et al., ergänzt durch Mc Loughlin 2011, lagen zum Zeitpunkt der Studie 2007 nicht vor. [169, 170]

Auch bei Einhaltung des standardisierten Protokolls ist die FMD-Messung recht störanfällig, wodurch unbeabsichtigte Einflüsse bei der Datenerhebung nicht gänzlich ausgeschlossen werden können.

Allgemein ist die Vasodilatation, die als Grundlage dieser Endothelfunktionsmessung dient, sehr anfällig für endogene sowie exogene Beeinflussungen wie Stress, Nahrungsaufnahme (z.B. Koffein oder Alkohol), Blutdruck, Hormonstatus, Alter, Temperatur, Licht sowie Okklusionszeit und Positionierung der Blutdruckmanschette. Um diese unerwünschten Einflüsse auf die Vasodilatation so gering wie möglich zu halten, wurde im Studienprotokoll auf ein strenges Setting der Messung wie auch auf genaue Verhaltensvorgaben für die Probandinnen geachtet. Diese wurden u.a. dazu angehalten nach 12 h Nahrungskarenz nüchtern zur Messung zu erscheinen. Die Messungen wurden immer zur selben Tageszeit im selben konstant temperierten, abgedunkelten, ruhigen Raum durchgeführt. Die Probandinnen wurden weiterhin dazu angehalten, vor der Messung keiner starken körperlichen Betätigung nachzugehen und mussten vor Beginn der Messung eine halbe Stunde auf der Untersuchungsfläche ruhen. Der hormonelle Status der Postmenopause wurde mittels Blutparameter sichergestellt und es wurde auf ein im Normbereich liegenden Blutdruck und Puls geachtet. Dies entspricht den Vorgaben, sowohl der alten wie auch der neuen Richtlinien zur FMD-Messung. [126, 169]

Weitere Einflussfaktoren sind die technische Durchführung und die nachfolgende Auswertung der gewonnenen Aufzeichnungen.

Durch die manuelle Messung mittels hochauflösenden Ultraschalls ist diese Methode stark untersucherabhängig. Um zuverlässige und miteinander vergleichbare Darstellungen bei der sonographischen Gefäßdiameterbestimmung zu erhalten, wurden alle Messungen dieser

Studie von demselben Untersucher durchgeführt, welcher über die ausreichende Erfahrung von über 100 geforderten Trainingsmessungen verfügte. Gewisse Beeinflussungen der Ergebnisse können jedoch aufgrund dieser sehr anspruchsvollen sonographischen Messung nicht ausgeschlossen werden. So ist z.B. das Gefäß nicht immer optimal darstellbar, was die spätere Auswertung der Aufzeichnungen beeinflussen und mitunter auch verfälschen kann. Falsche Schallwinkel führen zu unrealen Diameterdarstellungen. Um dieses Problem zu umgehen, wurde mit Hilfe einer eigens für diese Messung konstruierten Haltevorrichtung auf die exakte und für alle Messungen an einer Probandin reproduzierbare Schallkopfeinstellung geachtet. Verfälschungen in der Diameterdarstellung können auch durch anatomische Gegebenheiten wie Kaliberschwankungen im longitudinalen Querschnitt eines Gefäßes auftreten. Um solche Schwankungen in der Ruhediameterdarstellung zu verhindern, wurde durch Dokumentation und Kennzeichnung des Messpunktes versucht, die gesamte Messreihe einer Probandin an exakt derselben Stelle ihres Gefäßes zu messen. Die gemessenen Ruhediameter jeder einzelnen Probandin dieser Studie weichen mit 0,01 cm bis maximal 0,05 cm kaum voneinander ab, was gegen Verfälschungen der Messungen spricht. Auch das Anlegen der Blutdruckmanschette erfolgte immer an derselben Stelle, distal des zu messenden Gefäßes, mit einer exakt 5 min dauernden Okklusionszeit, um Schwankungen in der postischämischen Scherkraft zu vermindern.

Nach den neuen Richtlinien wird eine Aufzeichnung des Gefäßdiameters postischämisch von 180 Sekunden empfohlen. In der vorliegenden Studie wurden nur 120 Sekunden postischämisch aufgezeichnet. Bei der Hälfte der Probandinnen zeigte sich der FMD-Maximalwert schon nach ca. 60 bis 75 Sekunden, bei den restlichen Probandinnen nach 90 bis 105 Sekunden, zum Zeitpunkt der 120 Sekunden konnte, im Vergleich zum FMD-Maximalwert, ein verringerter Wert gemessen werden. Eine Änderung der FMDmax-Werte bei verlängerten postischämischen Aufzeichnungen bis 180 Sekunden kann aber nicht gänzlich ausgeschlossen werden. [169]

Ein weiterer Schwachpunkt im Studienprotokoll liegt in der fehlenden winkelkorrigierten Flussgeschwindigkeitsbestimmung in der *A. brachialis* mit Hilfe der PW-Duplexsonographie. Im Studienprotokoll wurde keine Dokumentation der in den neuen Richtlinien geforderten induzierten Strömungsgeschwindigkeit durchgeführt. Der Doppler wurde lediglich als optische Kontrolle zur korrekten Diameterbestimmung bei den prä- und den postischämischen Aufzeichnungen benutzt. Es kann also keine Aussage über die Zunahme der Strömungs-

geschwindigkeit postischämisch gemacht werden, die in der Regel 3-4 fach so hoch wie der Ausgangswert ist. [116]

Die Forderung nach einer B-mode-Sonografie mit einem Schallkopf $> 7,5$ MHz wurde hingegen erfüllt. Durch die Verwendung eines 13 MHz - Schallkopfes kann von einer genügend guten Auflösung und Bildqualität als Grundlage für eine qualitativ gute Auswertung der Aufzeichnungen ausgegangen werden.

Weitere Schwierigkeiten dieser Methode der Endothelfunktionsmessung liegen in der Auswertung der erhobenen sonographischen Gefäßaufzeichnungen. Die zu erwartenden Veränderungen im Gefäßdurchmesser der *A. brachialis* liegen nur bei 5 bis 15 % bei einem in der Regel nur 3 bis 4 mm großen Gefäßdiameter. Die Gefäßdiameterbestimmungen, von denen 9 pro Aufzeichnung vorgenommen wurden, erfolgten mit Hilfe einer automatisierten Auswertungssoftware. Trotz dieser Software bleibt die Datenerhebung subjektiv und störanfällig. Schon kleine Ungenauigkeiten können dabei zu einem veränderten Ergebnis führen. Eine Fehlerquelle stellt hier die im B-Mode vergrößerte Gefäßwandabbildung durch sonographische Wandreflexe dar. [171] Zur Minimierung und Systematisierung dieses Bestimmungsfehlers wurde die sogenannte leading-edge-Methode angewendet bei der die Diameterabmessung zwischen Außenwandreflex (ultraschallnah) und Innenwandreflex (ultraschallfern) der Gefäßwände erfolgte. Diese Bestimmungsmethode hilft eine bessere Reproduzierbarkeit der erhobenen Messdaten, durch eine Systematisierung des unvermeidlichen Messfehlers, zu erreichen. [141]

Die Bestimmung des mittleren Gefäßdiameter erfolgte EKG-getriggert, um Störeinflüsse durch pulsatil bedingte Lumenschwankungen so gering wie möglich zu halten. Trotz der Beachtung der möglichen Fehlerquellen könnte die Auswertung in ihrer manuellen Ausführung fehlerbehaftet und schwer vergleichbar sein. Zur Vermeidung einer großen Variabilität bei der Auswertung der gewonnenen Bilddaten wurde die gesamte Analyse von derselben Person durchgeführt. Auch die Verwendung einer Auswertungssoftware wie in unserer Studie trägt laut Studienlage zur Verringerung der Variabilität der Ergebnisse bei, weshalb sie auch in den aktuellen Richtlinien gefordert wird. [169, 172] Zur Überprüfung der Mess- und Auswertungsgenauigkeit wurden der intra- und interindividuelle Intraklassenkorrelationskoeffizient bestimmt. Dabei wurden zufällig ausgewählte Stichproben der Bilddaten erneut ausgewertet, sowohl vom ursprünglichen Untersucher, sowie von einem unabhängigen Kontrolluntersucher. Diese zusätzlichen Ergebnisse der Bilddatenanalyse wurden miteinander verglichen und deren Abweichung, bzw. Übereinstimmung überprüft.

Die dadurch gewonnenen intra- und interindividuellen Intraklassenkorrelationskoeffizienten zeigten annähernd vergleichbare Werte. Alle erhobenen Intraklassenkorrelationskoeffizienten lagen zwischen 0,98 und 1, was auf eine geringe Untersuchervariabilität sowohl intra- wie auch interindividuell hindeutet. Damit kann davon ausgegangen werden, dass die gewonnenen Messdaten dieser Studie einer hohen Mess- und Auswertungsgenauigkeit unterlagen. [115]

Um Fehler durch eine andere Funktionseinschränkungen der subendothelialen glatten Muskelzellschicht ausschließen zu können, wurde neben der FMD die wichtige Kontrollmessung der NMD durchgeführt. Diese zeigte keine signifikanten Unterschiede, weder zwischen der Interventions- und der Kontrollgruppe, noch zwischen den verschiedenen Zeitpunkten der Lycopineinnahmen in der Interventionsgruppe.

Die Ergebnisse dieser Studie wurden veröffentlicht unter:

Stangl V, Kuhn C, Hentschel S, Jochmann N, Jacob C, Böhm V, Fröhlich K, Müller L, Gericke C, Lorenz M (2011) Lack of effects of tomato products on endothelial function in human subjects: results of a randomised, placebo-controlled cross-over study. *Br J Nutr* **105**, 263-267.

Abkürzungsverzeichnis

ABTS	2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure)
ADH	Antidiuretisches Hormon
ADMA	Asymmetrisches Dimethylarginin
aHTN	arterielle Hypertonie
ALAT	Alaninaminotransferase
ASAT	Aspartataminotransferase
AT1-Rezeptor	Angiotensin II-Rezeptor Subtyp 1
ATP	Adenosintriphosphat
baPWV	Brachial-ankle pulse wave velocity
bFGF	Basic fibroblast growth factor
BH ₄	Tetrahydrobiopterin
CD	Cluster of differentiation
cGMP	cyclisches Guanosinmonophosphat
CMO II	β- Carotin- 9'10'-Monooxygenase
CRP	C-reaktives Protein
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDHF	Endothelium-derived hyperpolarizing factor
EDRF	Endothelium-derived relaxing Factor = NO
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EKG	Elektrokardiographie
eNOS	Endotheliale NO-Synthase
EPIC(-Studie)	European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition
ETA-Rezeptor	Endothelin-A-Rezeptor
EURAMIC(-Studie)	European Community Multicenter Study on Antioxidants, Myocardial Infarction and Breast Cancer
FH	familiäre Hypercholesterinämie
FMD	Flow-mediated dilation = flussvermittelte endothelabhängige Vasodilatation
FMDmax	flussvermittelte maximale endothelabhängige Vasodilatation
FRS	Framingham Risk Score
FSH	follikelstimulierendes Hormon

GGT	Gammaglutamyltransferase
GTN	Glyceroltrinitrat = Nitroglycerin
GTP	Guanosintriphosphat
HbA _{1c}	Glykohämoglobin
HDL	High-density-lipoprotein
HKE	Herzkreislauferkrankungen
HOCl	Hypochlorsäure
HPLC	High performance liquid chromatography
hsCRP	hochsensitives CRP
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule 1
IL-6	Interleukin-6
IMT	Intima-media Thickness
INF	Interferon
KHK	Koronare Herzkrankheit
LDL	Low-density-lipoprotein
LH	luteinisierendes Hormon
LP(a)	Lipoprotein(a)
LYCOCARD	Role of Lycopene for the Prevention of Cardiovascular Diseases
M-CSF	Monocyte colony stimulating factor
MESA	Multi-Ethnic Study of Arteriosclerosis
MTBE	Methyl-tert-butylether
MW	Mittelwert
NADPH	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
NG	Nassgewicht
NMD	Nitro-mediated dilatation = nitrovermittelte endothelunabhängige Vasodilatation
NMDmax	nitrovermittelte maximale endothelunabhängige Vasodilatation
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	NO-Synthase
O ²⁻	Sauerstoffsuperoxid = Superoxidanion
ONOO ⁻	Peroxinitrit
oxLDL	oxidiertes LDL

PAI	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor
PAT	Puls-Amplitudenmessung
pAVK	periphere Arterielle Verschlusskrankheit
PCAM-1	Platelet endothelial cell adhesion molecule
PKA	Pulskonturanalyse
PWA	Pulswellenanalyse
RH-PAT	Reactive hyperemia pulse amplitude tonometry
ROS	Reactive oxygen species (reaktive Sauerstoffspezies)
RR	arterieller Blutdruck
SD	standard deviation - Standardabweichung
SEM	standard error of the mean - Standardfehler des Mittelwerts
sICAM-1	soluble intercellular adhesion molecule 1
SOD	Superoxid-dismutase
t0h	Messpunkt nach 14 Tagen Lycopinauswaschung
t24h	Messpunkt 24 Stunden nach der ersten Lycopineinnahme bzw. Kontrollgruppe
t7d	Messpunkt am Ende der 7-tägigen Lycopineinnahme bzw. Kontrollgruppe
TEAC-Assay	Trolox equivalent antioxidant capacity assay
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
TSH	Thyreoidea stimulierendes Hormon
VCAM-1	Vascular cell adhesion molecule 1
VLA-4	Very Late Antigen-4
VLDL	Very-low-density-lipoprotein
VSMC	Vascular smooth muscle cell
VVP	Venen-Verschluss-Plethysmographie
VWF	von-Willebrand-Faktor
WHO	World Health Organization

Literatur- und Quellenverzeichnis

- [1] World Health Organization: Global status report on noncommunicable diseases 2014, Geneva, Switzerland, XIV.
- [2] Statistisches Bundesamt (Federal Statistical Office): Todesursachen, unter: <https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/SterbefaelleInsgesamt.html> (abgerufen am 24.08.2015).
- [3] Lijkhuis W, Mali W, Appelman Y (2009) A historical perspective towards a non-invasive treatment for patients with atherosclerosis. *Neth Heart J* **17** (4), 140-144.
- [4] Ross R, Glomset JA, Harker L (1977) Response to injury and atherogenesis. *Am J Pathol* **86**(3), 675–684.
- [5] Grundmann (2008) Allgemeine Pathologie. 11. Aufl., München, Urban + Fischer Verlag, 308.
- [6] Brown MS, Goldstein JL (1985) A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. Nobel lecture, 9 December, 1985. *Physiology or Medicine*, 284-324.
- [7] Bourassa MG, Tardif JC (2006) Antioxidants and cardiovascular disease. 2. Auflage, Heidelberg, Springer Verlag, 24-35.
- [8] Framingham Heart Study, unter: <http://www.framinghamheartstudy.org/about-fhs/history.php> (abgerufen am 24.08.2015)
- [9] Evans A, Tolonen H, Hense HW, Ferrario M, Sans S, Kuulasmaa K (2001) Trends in coronary risk factors in the WHO MONICA Project. *Int J Epidemiol* **30**, 35-40.
- [10] Greten, H (Herausgeber) (2005) Innere Medizin. 12. Auflage, Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 34.
- [11] Windler E (1996) Prevention of cardiovascular diseases by hormone replacement in postmenopause. *Zentralbl Gynakol* **118**, 188-197.
- [12] Finking G, Gohar MH, Lenz C, Hanke H (2000) The effects of estrogen in the cardiovascular system. *Z Kardiol* **89**, 442-453.
- [13] Hayashi S, Yamada K, Esaki T et al. (1995) Estrogen increases endothelial nitric oxide by a receptor-mediated system. *Biochem Biophys Res Commun* **214**, 847-855.
- [14] Walsh BW, Schiff I, Rosner B, Greenberg L, Ravinkar V, Sacks FM (1991) Effects of postmenopausal estrogen replacement on the concentrations and metabolism of plasma lipoproteins. *N Engl J Med* **325**, 1196-1204.
- [15] Sack MN, Rader JR, Cannon RO (1994) Estrogen and inhibition of oxidation of lowdensity lipoproteins in postmenopausal women. *Lancet* **343**, 269-270.
- [16] Subbiah MT, Kessel B, Agrawal M et al. (1993) Antioxidant potential of specific estrogens on lipid peroxidation. *J Clin Endocrinol Metab* **77**, 1095-1097.

- [17] Cooke JP (1997) Therapeutic interventions in endothelial dysfunction: endothelium as a target organ. *Clin Cardiol* **20** (11 Suppl 2), II-45-51.
- [18] Gilligan DM, Badar DM, Panza JA, Quyyumi AA, Cannon RO 3rd (1994) Acute vascular effects of estrogen in postmenopausal women. *Circulation* **90**, 786-791.
- [19] Sofi F, Cesari F, Abbate R, Gensini GF, Casini A (2008) Adherence to Mediterranean diet and health status: meta-analysis. *BMJ* **337**, 1344-50
- [20] Visioli F, Galli C (2001) The role of antioxidants in the mediterranean diet. *Lipids* **36**, 49-52.
- [21] Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (DGE), Evidenzbasierte Leitlinie: Fettzufuhr und Prävention ausgewählter ernährungsmitbedingter Krankheiten (2. Version 2015), 135-156.
- [22] Britton G (1995) Structure and properties of carotenoids in relation to function. *FASEB J* **9**, 1551-1558.
- [23] Britton G, Liaaen-Jensen S, Pfander H (2004) Carotenoids: Handbook. Birkhäuser Verlag Basel-Boston-Berlin.
- [24] Johnson EJ (2000) The role of lycopene in health and disease. *Nutr Clin Care* **3**, 35-43.
- [25] Shi J, Le Maguer M (2000) Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. *Crit Rev Food Sci Nutr* **40**, 1-42.
- [26] Krinsky NI, Johnson EJ (2005) Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Mol Aspects Med* **26**, 459-516.
- [27] Fröhlich K (2007) Lycopin-Isomere in Lebensmitteln und Humanplasma-Strukturaufklärung, antioxidative Aktivität, Gehalte und relative (E)-(Z)-Verhältnisse. Dissertation Januar 2007, Friedrich-Schiller-Universität Jena.
- [28] European Commission, Sixth Framework Programme, LYOCARD, Lycopin und Gesundheit, unter: http://www.lyocard.com/index.php/lyco_pub_de/gesundheit/ (abgerufen am 24.08.2015).
- [29] Reich P, Shwachman H, Craig JM (1960) Lycopopenemia: a variant of carotenemia. *N Engl J Med* **262**, 263-269.
- [30] Stahl W, Schwarz W, Sundquist AR, Sies H (1992) cis-trans isomers of lycopene and b-carotene in human serum and tissues. *Arch Biochem Biophys* **294**, 173-177.
- [31] Fröhlich K, Kaufmann K, Bitsch R, Böhm V (2006) Effects of ingestion of tomatoes, tomato juice and tomato puree on contents of lycopene isomers, tocopherols and ascorbic acid in human plasma as well as on lycopene isomer pattern. *Br J Nutr* **95**, 734-741.
- [32] Schierle J, Bretzel W, Bühler I et al. (1997) Content and isomeric ratio of lycopene in food and human blood plasma. *Food Chem* **59**, 459-465.

- [33] Re R, Fraser PD, Long M, Bramley PM, Rice-Evans C (2001) Isomerization of lycopene in the gastric milieu. *Biochem Biophys Res Commun* **281**, 576-581.
- [34] Boileau AC, Merchen NR, Wasson K, Atkinson CA, Erdman JW Jr (1999) Cislycopene is more bioavailable than trans-lycopene in vitro and in vivo in lymph-cannulated ferrets. *J Nutr* **129**, 1176-1181.
- [35] Failla ML, Chitchumroonchokchai C, Ishida BK (2008) In vitro micellarization and intestinal cell uptake of cis isomers of lycopene exceed those of all-trans lycopene. *J Nutr* **138**, 482-486.
- [36] Williams AW, Boileau TW, Erdman JW Jr (1998) Factors influencing the uptake and absorption of carotenoids. *Proc Soc Exp Biol Med* **218**, 106-108.
- [37] Sy C, Gleize B, Dangles O, Landrier JF, Veyrat CC, Borel P (2012) Effects of physicochemical properties of carotenoids on their bioaccessibility, intestinal cell uptake, and blood and tissue concentrations. *Mol Nutr Food Res* **56**, 1385-1397.
- [38] Clevidence BA, Bieri JG (1993) Association of carotenoids with human plasma lipoproteins. *Methods Enzymol* **214**, 33-46.
- [39] Paetau I, Khachik F, Brown ED et al. (1998) Chronic ingestion of lycopene-rich tomato juice or lycopene supplements significantly increases plasma concentrations of lycopene and related tomato carotenoids in humans. *Am J Clin Nutr* **68**, 1187-1195.
- [40] Agarwal S, Rao AV (2000) Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *Can Med Assoc J* **163**, 739-744.
- [41] Schmitz HH, Poor CL, Wellman RB, Erdman JW Jr (1991) Concentrations of selected carotenoids and vitamin A in human liver, kidney and lung tissue. *J Nutr* **121**, 1613-1621.
- [42] Kaplan LA, Lau JM, Stein EA (1990) Carotenoid composition, concentrations, and relationships in various human organs. *Clin Physiol Biochem* **8**, 1-10.
- [43] Schwartz SJ (2005) How can the metabolomic response to lycopene (exposures, durations, intracellular concentrations) in humans be adequately evaluated? *J Nutr* **135**, 2040S-2041S.
- [44] Lindshield BL, Canene-Adams K, Erdman JW Jr (2007) Lycopene metabolites bioactive? *Arch Biochem Biophys* **458**, 136-140.
- [45] Kim SJ, Nara E, Kobayashi H, Terao J, Nagao A (2001) Formation of cleavage products by autoxidation of lycopene. *Lipids* **36**, 191-199.
- [46] Kopec RE, Riedl KM, Harrison EH et al. (2010) Identification and quantification of apo-lycopenals in fruits, vegetables, and human plasma. *J Agric Food Chem* **58**, 3290-3296.

- [47] Ford NA, Erdman JW Jr (2012) Are lycopene metabolites metabolically active? *Acta Biochim Pol* **59**, 1-4.
- [48] Hu KQ, Liu C, Ernst H, Krinsky NI, Russell RM, Wang XD. (2006) The biochemical characterization of ferret carotene- 9' -, 10' - monooxygenase catalyzing cleavage of carotenoids in vitro and in vivo. *J Biol Chem* **281**, 19327-19338.
- [49] Wang XD (2012) Lycopene metabolism and its biological significance. *Am J Clin Nutr* **96**, 1214S-1222S.
- [50] During A, Hussain MM, Morel DW, Harrison EH (2002) Carotenoid uptake and secretion by CaCo- 2 cells: b-carotene isomer selectivity and carotenoid interactions. *J Lipid Res* **43**, 1086-1095.
- [51] O'Neill ME, Thurnham DI (1998) Intestinal absorption of b-carotene, lycopene and lutein in men and women following a standard meal: response curves in the triacylglycerol-rich lipoprotein fraction. *Br J Nutr* **79**, 149-159.
- [52] Brown MJ, Ferruzzi MG, Nguyen ML et al. (2004) Carotenoid bioavailability is higher from salads ingested with full-fat than with fat-reduced salad dressings as measured with electrochemical detection. *Am J Clin Nutr* **80**, 396-403.
- [53] Furr HC, Clark RM (1997) Intestinal absorption and tissue distribution of carotenoids. *J Nutr Biochem* **8**, 364-377.
- [54] van het Hof KH, West CE, Weststrate JA, Hautvast JG (2000b) Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. *J Nutr* **130**, 503-506.
- [55] Stahl W, Sies H (1992) Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heatprocessed than from unprocessed tomato juice in humans. *J Nutr* **122**, 2161-2166.
- [56] van het Hof KH, de Boer BC, Tijburg LB et al. (2000a) Carotenoid bioavailability in humans from tomatoes processed in different ways determined from the carotenoid response in the triglyceride-rich lipoprotein fraction of plasma after a single consumption and in plasma after four days of consumption. *J Nutr* **130**, 1189-1196.
- [57] Porrini M, Riso P, Testolin G (1998) Absorption of lycopene from single or daily portions of raw and processed tomato. *Br J Nutr* **80**, 353-361.
- [58] Cohn W, Thürmann P, Tenter U, Aebischer C, Schierle J, Schalch W (2004) Comparative multiple dose plasma kinetics of lycopene administered in tomato juice, tomato soup or lycopene tablets. *Eur J Nutr* **43**, 304-312.
- [59] Zhao X, Aldini G, Johnson EJ et al. (2006) Modification of lymphocyte DNA damage by carotenoid supplementation in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* **83**, 163-169.

- [60] Balestrieri ML, De Prisco R, Nicolaus B et al. (2004) Lycopene in association with α -tocopherol or tomato lipophilic extracts enhances acyl-platelet-activating factor biosynthesis in endothelial cells during oxidative stress. *Free Radic Biol Med* **36**, 1058-1067.
- [61] Johnson EJ, Qin J, Krinsky NI, Russell, RM (1997) Ingestion by men of a combined dose of β -carotene and lycopene does not affect the absorption of β -carotene but improves that of lycopene. *J. Nutr* **127**, 1833-1837.
- [62] Diwadkar-Navsariwala V, Novotny JA, Gustin DM et al. (2003) A physiological pharmacokinetic model describing the disposition of lycopene in healthy men. *J Lipid Res* **44**, 1927-1939.
- [63] Al-Delaimy WK, van Kappel AL, Ferrari P et al. (2004) Plasma levels of six carotenoids in nine European countries: report from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Public Health Nutr* **7**, 713-722.
- [64] Pelz R, Schmidt-Faber B, Hesecker H (1998) Die Carotenoidzufuhr in der Nationalen Verzehrsstudie. *Z Ernährungswiss* **37**, 319-327.
- [65] Müller H (1996) The daily intake of carotenoids (carotenes and xanthophylls) from total daily diets and carotenoid contents of selected vegetables and fruits. *Z Ernährungswiss* **35**, 45-50.
- [66] Rao AV, Ray MR, Rao LG (2006) Lycopene, *Adv Food Nutr Res* **51**, 99-164.
- [67] Stahl W, Sies H (1996) Lycopene: A biologically important carotenoid for humans? *Arch Biochem Biophys* **336**, 1-9.
- [68] Porrini M, Riso P (2005) What are typical lycopene intakes? *J Nutr* **135**, 2042-2045.
- [69] Rao AV, Agarwal S (1998) Bioavailability and in vivo antioxidant properties of lycopene from tomato products and their possible role in the prevention of cancer. *Nutr Cancer* **31**, 199-203.
- [70] Jenab M, Ferrari P, Mazuir M et al. (2005) Variations in lycopene blood levels and tomato consumption across European countries based on the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *J Nutr* **135**, 2032-2036.
- [71] Klipstein-Grobusch K, Launer LJ, Geleijnse JM, Boeing H, Hofman A, Witteman JCM (2000) Serum carotenoids and atherosclerosis. The Rotterdam Study. *Atherosclerosis* **148**, 49-56.
- [72] Michaud DS, Giovannucci EL, Ascherio A et al. (1998) Associations of plasma carotenoid concentrations and dietary intake of specific carotenoids in samples of two prospective cohort studies using a new carotenoid database. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **7**, 283-290.
- [73] Vuong LT, Dueker SR, Murphy SP (2002) Plasma β -carotene and retinol concentrations of children increase after a 30-d supplementation with the fruit *Momordica cochinchinensis* (gac). *Am J Clin Nutr* **75**, 872-879.

- [74] Müller H, Bub A, Watzl B, Rechkemmer G (1999) Plasma concentrations of carotenoids in healthy volunteers after intervention with carotenoid-rich foods. *Eur J Nutr* **38**, 35-44.
- [75] Böhm V, Bitsch R (1999) Intestinal absorption of lycopene from different matrices and interactions to other carotenoids, the lipid status, and the antioxidant capacity of human plasma. *Eur J Nutr* **38**, 118-125.
- [76] Brown ED, Micozzi MS, Craft NE et al. (1989) Plasma carotenoids in normal men after a single ingestion of vegetables or purified beta-carotene. *Am J Clin Nutr* **49**, 1258-1265.
- [77] Rock CL, Swendseid ME, Jacob RA, McKee RW (1992) Plasma carotenoid levels in human subjects fed a low carotenoid diet. *J Nutr* **122**, 96-100.
- [78] Oshima S, Sakamoto H, Ishiguro Y, Terao J (1997) Accumulation and clearance of capsanthin in blood plasma after the ingestion of paprika juice in men. *J Nutr* **127**, 1475-1479.
- [79] Lewinsohn E, Sitrit Y, Bar E et al. (2005) Carotenoid pigmentation affects the volatile composition of tomato and watermelon fruits, as revealed by comparative genetic analyses. *J Agric Food Chem* **53**, 3142-3148.
- [80] Lingen, C, Ernster L, Lindberg, O (1959) The promoting effect of lycopene on the non-specific resistance of animals. *Exp Cell Res* **16**, 384-393.
- [81] Kohlmeier L, Kark JD, Gomez-Gracia E et al. (1997) Lycopene and myocardial infarction risk in the EURAMIC Study. *Am J Epidemiol* **146**, 618-626.
- [82] Di Mascio P, Kaiser S, Sies H (1989) Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch Biochem Biophys* **274**, 532-538.
- [83] Mortensen A, Skibsted LH, Sampson J, Rice-Evans C, Everett SA (1997) Comparative mechanisms and rates of free radical scavenging by carotenoid antioxidants. *FEBS Lett* **418**, 91-97.
- [84] Erdman JW Jr, Ford NA, Lindshield BL (2009) Are the health attributes of lycopene related to its antioxidant function? *Arch Biochem Biophys* **483**, 229-235.
- [85] Fuhrman, B, Elis, A, Aviram, M (1997) Hypocholesterolemic effect of lycopene and betacarotene is related to suppression of cholesterol synthesis and augmentation of LDL receptor activity in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* **233**, 658-662.
- [86] Dugas TR, Morel DW, Harrison EH (1998) Impact of LDL carotenoid and α -tocopherol content on LDL oxidation by endothelial cells in culture. *J Lipid Res* **39**, 999-1007.
- [87] Chen CP, Hung CF, Lee SC, Lo HM, Wu PH, Wu WB (2010) Lycopene binding compromised PDGF-AA/-AB signaling and migration in smooth muscle cells and fibroblasts: prediction of the possible lycopene binding site within PDGF. *Arch Pharmacol* **381**, 401-414.

- [88] Lo HM, Hung CF, Tseng YL, Chen BH, Jian JS, Wu WB (2007) Lycopene binds PDGF-BB and inhibits PDGF-BB-induced intracellular signalling transduction pathway in rat smooth muscle cells. *Biochem Pharmacol* **74**, 54-63.
- [89] Hsiao G, Wang Y, Tzu N et al. (2005) Inhibitory effects of lycopene on in vitro platelet activation and in vivo prevention of thrombus formation. *J Lab Clin Med* **146**, 216-226.
- [90] O’Kennedy N, Crosbie L, Whelan S et al. (2006) Effects of tomato extract on platelet function: a double-blinded crossover study in healthy humans. *Am J Clin Nutr* **84**, 561-569.
- [91] O’Kennedy N, Crosbie L, van Lieshout M, Broom JI, Webb DJ, Duttaroy AK (2006) Effects of antiplatelet components of tomato extract on platelet function in vitro and ex vivo: a time-course cannulation study in healthy humans. *Am J Clin Nutr* **84**, 570-579.
- [92] Hung CF, Huang TF, Chen BH, Shieh JM, Wu PH, Wu WB (2008) Lycopene inhibits TNF- α -induced endothelial ICAM-1 expression and monocyte-endothelial adhesion. *Eur J Pharmacol* **586**, 275-282.
- [93] Hozawa A, Jacobs DR Jr, Steffes MW, Gross MD, Steffen LM, Lee D (2007) Relationships of circulating carotenoid concentrations with several markers of inflammation, oxidative stress, and endothelial dysfunction: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA)/Young Adult Longitudinal Trends in Antioxidants (YALTA) Study. *Clin Chem* **53**, 447-455.
- [94] van Herpen-Broekmans WMR, Klöpping-Ketelaars IAA, Bots ML et al. (2004) Serum carotenoids and vitamins in relation to markers of endothelial function and inflammation. *Eur J Epidemiol* **19**, 915-921.
- [95] Riso P, Visioli F, Grande S et al. (2006) Effect of a tomato-based drink on markers of inflammation, immunomodulation and oxidative stress. *J Agric Food Chem* **54**, 2563-2566.
- [96] Watzl B, Bub A, Brandstetter BR, Rechkemmer G (1999) Modulation of human T-lymphocyte functions by the consumption of carotenoid-rich vegetables. *Br J Nutr* **82**, 383-389.
- [97] Watzl B, Bub A, Briviba K, Rechkemmer G (2003) Supplementation of a low-carotenoid diet with tomato or carrot juice modulates immune functions in healthy men. *Ann Nutr Metab* **47**, 255-261.
- [98] Muzandu K, Ishizuka M, Sakamoto KQ et al. (2006) Effect of lycopene and beta-carotene on peroxynitrite-mediated cellular modifications. *Toxicol Appl Pharmacol* **215**, 330-340.

- [99] Bowen P, Chen L, Stacewicz-Sapuntzakis M et al. (2002) Tomato sauce supplementation and prostate cancer: lycopene accumulation and modulation of biomarkers of carcinogenesis. *Exp Biol Med (Maywood)* **227**, 886-893.
- [100] Sahin M, Sahin E, Gümüşlü S (2012) Effects of lycopene and apigenin on human umbilical vein endothelial cells in vitro under angiogenic stimulation. *Acta Histochem* **114**, 94-100.
- [101] Lüllmann-Rauch R (2003) Histologie. Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 208-214.
- [102] Furchgott RF, Zawadzki JV (1980) The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* **288**, 373-376.
- [103] Förstermann U (2006) Janus-faced role of endothelial NO synthase in vascular disease: uncoupling of oxygen reduction from NO synthesis and its pharmacological reversal. *Biol Chem* **387**, 1521-1533.
- [104] Siegenthaler W, Blum HE (2006) Klinische Pathophysiologie. 9. Auflage, Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 664-665.
- [105] Silbernagl S, Despopoulos A (2001) Taschenatlas der Physiologie. 5. Auflage, Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 212.
- [106] Moens AL, Goovaerts I, Claeys MJ, Vrints C (2005) Flow-mediated vasodilation: A diagnostic instrument or an experimental tool? *Chest* **127**, 2254-2263.
- [107] Naseem KM (2005) The role of nitric oxide in cardiovascular diseases. *Mol Aspects Med* **26**, 33-65.
- [108] Parsi RA, Parsi E (2001) Kardiologie Angiologie. 1. Auflage, München, Urban + Fischer Verlag, 371.
- [109] Napoli C, de Nigris F, Williams-Ignarro S, Pignalosa O, Sica V., Ignarro LJ (2006) Nitric oxide and atherosclerosis: an update. *Nitric Oxide* **15**, 265-279.
- [110] Schwarzacher SP (2002) Das Endothel: parakrine und endokrine Funktionen. *J Cardiol* **9**, 121-124.
- [111] Sandri M, Mangner N, Adams V, Schuler G, Gielen S (2009) Das vaskuläre Endothel als Zielorgan körperlicher Aktivität. *J Cardiol* **16**, 280-283.
- [112] Kielstein JT, Impraim B, Simmel S et al. (2004) Cardiovascular effects of systemic nitric oxide synthase inhibition with asymmetrical dimethylarginine in humans. *Circulation* **109(2)**, 172-7.
- [113] Halliwell B, Gutteridge JMC (1989) Free Radicals in Biology and Medicine. *FEBS Lett* **307(1)**, 108-112.
- [114] Gryglewski RJ, Palmer RM, Moncada S (1986) Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature* **320**, 454-456.

- [115] Balletshofer BM, Rittig K, Stock J, Häring HU (2003) Indikatoren einer beginnenden Atherosklerose: Erfassung der endothelialen Dysfunktion mittels hochauflösendem Ultraschall, *Ultraschall in Med* **24**, 153-161.
- [116] Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM et al. (1992) Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* **340**, 1111-1115.
- [117] Doshi SN, Naka KK, Payne N et al. (2001) Flow-mediated dilatation following wrist and upper arm occlusion in humans: the contribution of nitric oxide. *Clin Sci (Lond)* **101**, 629-635.
- [118] Whitney RJ (1953); The measurement of volume changes in human limbs. *J Physiol* **121**, 1-27.
- [119] Al-Qaisi M, Kharbanda RK, Mittal TK, Donald AE (2008) Measurement of endothelial function and its clinical utility for cardiovascular risk. *Vasc Health Risk Manag* **4**, 647-652.
- [120] Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Terentes-Printzios D, Ioakeimidis N, Stefanadis C (2012) Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with brachial-ankle elasticity index: a systematic review and meta-analysis. *Hypertension* **60**, 556-562.
- [121] Donald AE, Charakida M, Cole TJ et al. (2006) Non-invasive assessment of endothelial function: which technique? *J Am Coll Cardiol* **48**, 1846-1850.
- [122] Bonetti PO, Pumper GM, Higano ST et al. (2004) Noninvasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. *J Am Coll Cardiol* **44**, 2137-2141.
- [123] Leeson CP, Robinson M, Francis JM et al. (2006) Cardiovascular magnetic resonance imaging for non-invasive assessment of vascular function: validation against ultrasound. *J Cardiovasc Magn Reson* **8**, 381-387.
- [124] Bauer M, Caviezel S, Teynor A, Erbel R, Mahabadi AA, Schmidt-Trucksäss A (2012) Carotid intima-media thickness as a biomarker of subclinical atherosclerosis. *Swiss Med Wkly* **142**, 13705.
- [125] Neunteufl T, Heher S (2000) Nichtinvasive Messung der Endothelfunktion: Neueste Erkenntnisse mit der Brachialis-Methode. *J Kardiol* **7**, 24-26.
- [126] Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ et al. (2002) Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: A report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* **39**, 257-265.
- [127] Pyke KE, Tschakovsky ME (2005) The relationship between shear stress and flow-mediated dilatation: implications for the assessment of endothelial function. *J Physiol* **568**, 357-369.

- [128] Deanfield J, Donald A, Ferri C et al. (2005) Endothelial function and dysfunction. Part I: Methodological issues for assessment in the different vascular beds: a statement by the Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens* **23**, 7-17.
- [129] Bots ML, Westerink J, Rabelink TJ, Koning EJP de (2005) Assessment of flow-mediated vasodilatation (FMD) of the brachial artery: effects of technical aspects of the FMD measurement on the FMD response. *Eur Heart J* **26**, 363-368.
- [130] Harris RA, Nishiyama SK, Wray DW, Richardson RS (2010) Ultrasound assessment of flow-mediated dilation. *Hypertension* **55**, 1075-1085.
- [131] Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD et al. (1995) Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* **26**, 1235-41.
- [132] Yeboah J, Folsom AR, Burke GL et al. (2009) Predictive value of brachial flow-mediated dilation for incident cardiovascular events in a population-based study: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Circulation* **120**, 502-509.
- [133] Gokce N, Keaney JF, Hunter LM et al. (2003) Predictive value of noninvasively determined endothelial dysfunction for long-term cardiovascular events in patients with peripheral vascular disease. *J Am Coll Cardiol* **41**, 1769-75.
- [134] Modena MG, Bonetti L, Coppi F, Bursi F, Rossi R (2002) Prognostic role of reversible endothelial dysfunction in hypertensive postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol* **40**, 505-510.
- [135] Neunteufl T, Heher S, Katzenschlager R et al. (2000) Late prognostic value of flow-mediated dilation in the brachial artery of patients with chest pain. *Am J Cardiol* **86**, 207-210.
- [136] Perticone F, Ceravolo R, Candigliota M et al. (2001) Obesity and body fat distribution induce endothelial dysfunction by oxidative stress: protective effect of vitamin C. *Diabetes* **50**, 159-165.
- [137] Elherik K, Khan F, McLaren M, Kennedy G, Belch JJ (2002) Circadian variation in vascular tone and endothelial cell function in normal males. *Clin Sci (Lond)* **102**, 547-552.
- [138] Kawano H, Motoyama T, Hirashima O et al. (1999) Hyperglycemia rapidly suppresses flow-mediated endothelium-dependent vasodilation of brachial artery. *J Am Coll Cardiol* **34**, 146-154.
- [139] Cuevas AM, Guasch V, Castillo O et al. (2000) A high-fat diet induces and red wine counteracts endothelial dysfunction in human volunteers. *Lipids* **35**, 143-148.
- [140] Ghiadoni L, Donald AE, Cropley M et al. (2000) Mental stress induces transient endothelial dysfunction in humans. *Circulation* **102**, 2473-2478.

- [141] Wendelhag I, Gustavsson T, Suurkula M, Berglund G, Wikstrand J (1991) Ultrasound measurement of wall thickness in the carotid artery: fundamental principles and description of a computerized analysing system. *Clin Physiol* **11**, 565-577.
- [142] Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, Bramley PM, Rice-Evans CA (1996) Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Lett* **384**, 240-242.
- [143] Böhm V, Puspitasari-Nienaber NL, Ferruzzi MG, Schwartz SJ (2002) Trolox equivalent antioxidant capacity of different geometrical isomers of α -carotene, β -carotene, lycopene, and zeaxanthin. *J Agric Food Chem* **50**, 221-226.
- [144] Lorenz M, Jochmann N, von Krosigk A, Martus P, Baumann G, Stangl K, Stangl V (2007) Addition of milk prevents vascular protective effects of tea. *Eur Heart J* **28**, 219-23.
- [145] Rissanen T, Voutilainen S, Nyyssönen K, Salonen R, Salonen JT (2000) Low plasma lycopene concentration is associated with increased intima-media thickness of the carotid artery wall. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **20**, 2677-2681.
- [146] McQuillan BM, Hung J, Beilby JP, Nidorf M, Thompson PL (2001) Antioxidant vitamins and the risk of carotid atherosclerosis. The Perth Carotid Ultrasound Disease Assessment study (CUDAS). *Am Coll Cardiol* **38**, 1788-1794.
- [147] Rao LG, Mackinnon ES, Josse RG, Murray TM, Strauss A, Rao AV (2007) Lycopene consumption decreases oxidative stress and bone resorption markers in postmenopausal women. *Osteoporos Int* **18**, 109-15.
- [148] Visioli F, Riso P, Grande S, Galli C, Porrini M (2003) Protective activity of tomato products on in vivo markers of lipid oxidation. *Eur J Nutr* **42**, 201-206.
- [149] Brady WE, Mares-Perlman JA, Bowen P, Stacewicz-Sapuntzakis M (1996) Human serum carotenoid concentrations are related to physiologic and lifestyle factors. *J Nutr* **126**, 129-137.
- [150] Olmedilla B., Granada F, Blanco I, Rojas-Hidalgo E. (1994) Seasonal and sex-related variations in six serum carotenoids, retinol, and alpha-tocopherol. *Am J Clin Nutr* **60**, 106-110.
- [151] Gustin DM, Rodvold KA, Sosman JA et al. (2004) Single-dose pharmacokinetic study of lycopene delivered in a well-defined food-based lycopene delivery system (tomato paste-oil mixture) in healthy adult male subjects. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **13**, 850-860.
- [152] Hoppe PP, Krämer K, van den Berg H, Steenge G, van Vliet T (2003) Synthetic and tomato-based lycopene have identical bioavailability in humans. *Eur J Nutr* **42**, 272-278

- [153] Allen CM, Smith AM, Clinton SK, Schwartz SJ (2002) Tomato consumption increases lycopene isomer concentrations in breast milk and plasma of lactating women. *J Am Diet Assoc* **102**, 1257-1262.
- [154] Denniss SG, Haffner TD, Kroetsch JT, Davidson SR, Rush JW, Hughson RL (2008) Effect of short-term lycopene supplementation and postprandial dyslipidemia on plasma antioxidants and biomarkers of endothelial health in young, healthy individuals. *Vasc Health Risk Manag* **4**, 213-222.
- [155] Kim OY, Yoe HY, Kim HJ et al. (2010) Independent inverse relationship between serum lycopene concentration and arterial stiffness. *Atherosclerosis* **208**, 581-586.
- [156] Xaplanteris P, Vlachopoulos C, Pietri P et al. (2012) Tomato paste supplementation improves endothelial dynamics and reduces plasma total oxidative status in healthy subjects. *Nutr Res* **32**, 390-394.
- [157] Smith TA (1998) Carotenoids and cancer: prevention and potential therapy. *Br J Biomed Sci* **55**, 268-275.
- [158] Mordente A, Guantario B, Meucci E et al. (2011) Lycopene and cardiovascular diseases: an update. *Curr Med Chem* **8**, 1146-1163.
- [159] Rissanen TH, Voutilainen S, Nyyssönen K, Salonen R, Kaplan GA, Salonen JT (2003) Serum lycopene concentrations and carotid atherosclerosis: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study 1–3 (KIHD-Studie). *Am J Clin Nutr* **77**, 133-138.
- [160] Gianetti J, Pedrinelli R, Petrucci R et al. (2002) Inverse association between carotid intima-media thickness and the antioxidant lycopene in atherosclerosis. *Am Heart J* **143**, 467-474.
- [161] Riccioni G, Bucciarelli T, D'Orazio N et al. (2008) Plasma antioxidants and asymptomatic carotid atherosclerotic disease. *Ann Nutr Metab* **53**, 86-90.
- [162] Riccioni G, D'Orazio N, Palumbo N et al. (2009) Relationship between plasma antioxidant concentrations and carotid intima-media thickness: the Asymptomatic Carotid Atherosclerotic Disease In Manfredonia Study. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* **16**, 351-357.
- [163] Riccioni G, D Orazio N, Scotti L et al. (2010) Circulating plasma antioxidants, inflammatory markers and asymptomatic carotid atherosclerosis in end-stage renal disease patients: a case control study. *Int J Immunopathol Pharmacol* **23**, 327-334.
- [164] Köppen M (2011) Einfluss von Tomateninhaltsstoffen auf die vaskuläre Endothelfunktion rauchender junger Männer. Dissertation, Medizinische Fakultät, Charité-Universitätsmedizin Berlin.
- [165] Kim JY, Paik JK, Kim OY et al. (2011) Effects of lycopene supplementation on oxidative stress and markers of endothelial function in healthy men. *Atherosclerosis* **215**, 189-195.

- [166] Dugas TR, Morel DW, Harrison EH (1999) Dietary supplementation with β -carotene, but not with lycopene, inhibits endothelial cell-mediated oxidation of low-density-lipoprotein. *Free Radic Biol Med* **26**, 1238-1244.
- [167] Ried K, Fakler P (2011) Protective effect of lycopene on serum cholesterol and blood pressure: Meta-analyses of intervention trials. *Maturitas* **68**, 299-310.
- [168] Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ (2007) Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation* **115**, 1285-1295.
- [169] Thijssen DH, Black MA, Pyke KE et al. (2011) Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **300**, 2-12.
- [170] Mc Loughlin S, Mc Loughlin MJ (2011) Letter to the editor: "Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline". *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **300**, 712.
- [171] Sauerbrei EE, Cooperberg PL, Gordon P, Li D, Cohen MM, Burhenne HJ (1980) The discrepancy between radiographic and sonographic bileduct measurements. *Radiology* **137**, 751-755.
- [172] Woodman RJ, Playford DA, Watts GF et al. (2001) Improved analysis of brachial artery ultrasound using a novel edge-detection software system. *J Appl Physiol* **91**, 929-937.
- [173] Burton-Freeman B, Sesso HD (2014) Whole food versus supplement: comparing the clinical evidence of tomato intake and lycopene supplementation on cardiovascular risk factors. *Adv Nutr* **5**, 457-85.
- [174] Li YF, Chang YY, Huang HC et al. (2015) Tomato juice supplementation in young women reduces inflammatory adipokine levels independently of body fat reduction. *Nutrition* **31(5)**, 691-6.

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abb. 1.1: Strukturformel Lycopin	16
Abb. 3.1: Studiendesign.....	39
Abb. 3.2: Anordnung von Ultraschallkopf und Staumanschette	39
Abb. 3.3: Arm- und Schallkopfhaltvorrichtung.....	41
Abb. 3.4: Messaufbau.....	41
Abb. 3.5: Sonographische Messung an der A. brachialis in Ruhe	42
Abb. 3.6: Sonographische Messung an der A. brachialis postischämisch	42
Abb. 4.1: Lycopinplasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten der Interventionsgruppe..	50
Abb. 4.2: Lycopinplasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten der Kontrollgruppe	51
Abb. 4.3: Lycopinplasma-Anstieg (Absolutwerte in $\mu\text{mol/L}$) bei allen Probandinnen während der 1-wöchigen Tomatensupplementierung	52
Abb. 4.4: FMDmax zu allen Messzeitpunkten der Interventionsgruppe.....	55
Abb. 4.5: FMDmax zu allen Messzeitpunkten der Kontrollgruppe	56
Abb. 4.6: FMD über 2 Minuten alle 15 Sekunden zu Beginn der Behandlung (t0h) (Tomatenmarkintervention vs. Kontrolldiät)	57
Abb. 4.7: FMD über 2 Minuten alle 15 Sekunden 24 Stunden nach Beginn der Behandlung (t24h) (Tomatenmarkintervention vs. Kontrolldiät).....	57
Abb. 4.8: FMD über 2 Minuten alle 15 Sekunden zum Abschluss der 1-wöchigen Behandlung (t7d) (Tomatenmarkintervention vs. Kontrolldiät)	58
Abb. 4.9: NMDmax zu allen Messzeitpunkten der Interventionsgruppe	59
Abb. 4.10: NMDmax zu allen Messzeitpunkten der Kontrollgruppe.....	59
Abb. 4.11: NMD über 5 Minuten alle 60 Sekunden zu Beginn der Behandlung (t0h)	60
Abb. 4.12: NMD über 5 Minuten alle 60 Sekunden 24 Stunden nach Beginn der Behandlung (t24h).....	61
Abb. 4.13: NMD über 5 Minuten alle 60 Sekunden zum Abschluss der 1-wöchigen Behandlung nach 7 Tagen (t7d)	61
Abb. 4.14: Korrelation der FMDmax% (Interventionsgruppe) für alle Messzeitpunkte (t0h, t24h, t7d)	62
Abb. 4.15: (Gesamt-) β -Carotinplasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten.....	63
Abb. 4.16: Luteinplasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten.....	64
Abb. 4.17: Korrelation lipophile antioxidative Kapazität und Plasma-alpha-Tocopherol	65
Abb. 4.18: Korrelation lipophile antioxidative Kapazität und Gesamt-Plasma-Tocopherol ..	66
Abb. 4.19: Korrelation lipophile antioxidative Kapazität und Gesamt-Lycopin	66

Abb. 4.20: Korrelation lipophile antioxidative Kapazität und Gesamt-Carotenoide	67
Abb. 4.21: (Gesamt-)Cholesterinplasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten.....	68
Abb. 4.22: HDL-Plasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten	69
Abb. 4.23: LDL-Plasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten.....	70
Abb. 4.24: Triglyceridplasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten	71
Abb. 4.25: CRP-Plasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten	72
Tabelle 1.1: Durchschnittlicher Lycopinkonsum pro Tag in mg	21
Tabelle 4.1: Basischarakteristika und Laborparameter (Voruntersuchung) der Probandinnen (n=19).....	48
Tabelle 4.2: Smartprice Tomatenmark (Januar 2006), Zutaten: Tomaten, Salz.	49
Tabelle 4.3: Tomatenmarkprodukte (Januar 2006) Gehalte in mg/100g Frischmasse.....	49
Tabelle 4.4: Gesamt-Lycopinplasmakonzentration.....	51
Tabelle 4.5: Plasmakonzentrationen der Lycopin-Isomere zu allen Messzeitpunkten der Interventions- und Kontrollgruppe (n=19).....	53
Tabelle 4.6: Arteriendurchmesser und FMD _{max} zu allen Messzeitpunkten	55
Tabelle 4.7: Arteriendurchmesser und NMD _{max} zu allen Messzeitpunkten	58
Tabelle 4.8: Gesamt-β-Carotinplasmakonzentration im Plasma zu allen Messzeitpunkten der Interventions- und Kontrollgruppe (n =19).....	63
Tabelle 4.9: Luteinplasmakonzentration zu allen Messzeitpunkten der Interventions- und Kontrollgruppe (n = 19)	64

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Sonja Schmidt (geb. Hentschel), versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Der Einfluss von Lycopin auf die Endothelfunktion postmenopausaler Frauen selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

17.02.2016

Unterschrift

Anteilerklärung

Sonja Schmidt (geb. Hentschel) hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Stangl V, Kuhn C, Hentschel S, Jochmann N, Jacob C, Böhm V, Fröhlich K, Müller L, Gericke C, Lorenz M (2011) Lack of effects of tomato products on endothelial function in human subjects: results of a randomised, placebo-controlled cross-over study. *Br J Nutr* **105**, 263-267.

Beitrag im Einzelnen:

Mitwirkung bei der Entwicklung des Studienaufbaus, Probandenakquise und -betreuung, Gewinnung und Versand des Probenmaterials, Auswertung der Messdaten, Archivierung

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationsliste

Stangl V, Kuhn C, Hentschel S, Jochmann N, Jacob C, Böhm V, Fröhlich K, Müller L, Gericke C, Lorenz M (2011) Lack of effects of tomato products on endothelial function in human subjects: results of a randomised, placebo-controlled cross-over study. *Br J Nutr* **105**, 263-267.

Danksagung

Zuerst möchte ich meiner Doktormutter, Frau Professor Stangl, herzlich für die Überlassung des interessanten und vielseitigen Themas danken, sowie für ihre zuverlässige und freundliche Unterstützung bei der Durchführung und Vollendung meiner Arbeit. Bei ihr fand ich stets ein freundliches Wort und konnte mich bei Fragen und Problemen immer an Sie wenden.

Ich möchte mich bei meiner Arbeitsgruppe für die große Hilfsbereitschaft und die gute und vertrauensvolle Zusammenarbeit bedanken. Besonders danke ich in diesem Zusammenhang Herrn Dr. rer. nat. Mario Lorenz für die umfassende, kompetente Betreuung und die vielen wertvollen Ratschläge und Korrekturvorschläge. Vielen Dank für die große Geduld. Mein weiterer aufrichtiger Dank gilt Frau Claudia Kuhn für die gute und enge Zusammenarbeit und ihre tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung der vielen, vielen Endothelfunktionsmessungen, ich konnte mich immer auf sie verlassen. Auch danke ich Frau Dr. med. Vanessa Witzel für die anfängliche Einarbeitung, Frau Dr. med N. Jochmann für die Auswertung der interindividuellen Messreihe, sowie Frau Christine Gericke für die Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Für die zuverlässige Bestimmung der Lycopinwerte, wie auch der weiteren Laborwerte danke ich den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe von Herrn PD Dr. rer. nat. habil. V. Böhm des Instituts für Ernährungswissenschaften der Friedrich-Schiller-Universität Jena. Ein besonderes Dankeschön gilt an dieser Stelle Frau Dr. rer. nat. Katie Fröhlich, welche als immer freundliche, kompetente und zuverlässige Ansprechpartnerin und Koordinatorin eine große Hilfe bei der Zusammenarbeit der beiden Arbeitsgruppen darstellte.

Auch den Mitarbeitern der internistischen Intensivstation der Charité-Universitätsklinik Mitte danke ich für die Nutzung ihres Laborraumes zur Aufarbeitung der gewonnenen Blutproben.

Ich bedanke mich bei allen Probandinnen dieser Studie, für ihre Geduld und ihr Durchhaltevermögen.

Von ganzem Herzen bedanke ich mich bei meiner Familie, die mir Kraft und Zuversicht gegeben haben diese Arbeit zu Ende zu führen. Ein riesiger Dank gebührt hier besonders meiner Mama, Roswitha Hentschel und Klaus Nagel, ohne deren unzählige Kinderbetreuungen ich diese Arbeit nicht hätte auf Papier bringen können. Klaus Nagel und meinen Brüdern Felix Hentschel und Moritz Nagel danke ich, dass ich mich bei allen computertechnischen Fragen und Angelegenheiten immer auf ihre Unterstützung verlassen

konnte. Mein größter Dank gilt meinem Mann, Frank Schmidt, der mir immer den Rücken frei gehalten hat und mir mit aufmunternden, wie auch mahnenden Worten über zahlreiche schwierige Momente hinweggeholfen hat und meinen 3 Töchtern Lilith, Maya und Clara für ihre jahrelange Geduld, wenn Mama wieder mal am Computer arbeiten musste.